

213008-05  
-5-CG300

보안 과제( ), 일반 과제( ) / 공개( ), 비공개( )발간등록번호( )

## Golden Seed 프로젝트 사업 2단계 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003959-01

터  
봇

우  
량  
종  
자

개  
발  
과

국  
내  
외

산  
업  
화

2022

농  
림  
축  
산  
식  
품  
부  
  
해  
양  
수  
산  
부  
  
농  
림  
식  
품  
기  
술  
기  
획  
평  
가  
원

# 터봇 우량종자 개발과 국내외 산업화

2022.03.25.

프로젝트연구기관 / 어업회사법인(주)블루젠  
세부프로젝트연구기관 / 영어조합법인 해연

농림축산식품부·해양수산부  
(전문기관) 농림식품기술기획평가원

<제출문>

## 제 출 문

농림축산식품부, 해양수산부 장관 귀하

본 보고서를 “Golden Seed 프로젝트 사업”(기간 : 2017. 01. ~ 2021. 12.) 수출용 터벗  
종자 개발과 국내외 산업화 프로젝트의 최종보고서로 제출합니다.

2022. 03. 25.

프로젝트연구기관명 : 어업회사법인(주)블루젠	(대표자) 이우재	(인)
세부프로젝트연구기관명 : 영어조합법인 해연	(대표자) 서종표	(인)
참여기관명 : 남부수산	(대표자) 김주환	(인)
참여기관명 : 신흥해산양식	(대표자) 권형숙	(인)

프로젝트연구책임자 : 이우재  
세부프로젝트연구책임자 : 서종표  
참여기관책임자 : 김주환, 권형숙

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의  
합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	213008-05 -5-CG300	해당단계 연구기간	2017.01.01.~ 2021.12.31	단계구분	5년/ 5년
연구사업명	단위사업	Golden Seed 프로젝트사업			
	사업명	GSP수산종자사업단			
프로젝트명	프로젝트명	터봇 우량종자 개발과 국내외 산업화			
	세부프로젝트명	터봇 국내외 시장 개척과 우량종자 대량생산 및 판매			
프로젝트책임자	이우재	해당단계 참여연구원 수	총: 19명 내부: 17명 외부: 2명	해당단계 연구개발비	정부:490,000천원 민간:163,334천원 계:653,334천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 105명 내부: 95명 외부: 10명	총 연구개발비	정부:3,172,000천원 민간:1,057,337천원 계:4,229,337천원
연구기관명 및 소속부서명	어업회사법인 (주)블루젠			참여기업명: 영어조합법인 해연 남부수산, 신흥해산양식	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명: (주)피쉬케어			연구책임자: 김성현	
※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음					
연구개발성과의 보안등급 및 사유	공개				

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구 시설· 장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명정보	생물 자원	정 보	실 물
등록·기탁 번호	2459-1831 2287-8815	10-2062452	11-1192000-00 0826-01					MF924567~76, MH185762~71, MN516806~15			

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설·장 비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)

보고서 면수

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 우량터봇종자를 개발하여 우량 종자의 대량 생산 구축 및 국내외 산업화를 추진하며, 터봇의 수출 확대를 통해 국제적 경쟁력을 갖추고자 함</li> <li>- 국내외 육종핵집단 구성 및 관리</li> <li>- 국내외 건강종자 대량 생산체계 확립</li> <li>- 국내외 터봇 시장 확대 및 마케팅</li> <li>- 돌삼다보어 수정란 대량공급 체계 구축</li> <li>- 터봇 3배체 수정란 생산방법 확립 및 종자 평가</li> </ul>				
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 국내외 육종핵집단 구성 및 관리                     <ul style="list-style-type: none"> <li>- 우수한 개체를 선발하여 육종핵집단으로 선발·관리</li> </ul> </li> <li>○ 국내외 건강종자 대량 생산체계 확립                     <ul style="list-style-type: none"> <li>- 건강종자 생산으로 국내 시장에 터봇 보급</li> <li>- 해외기지를 통해 친어 및 육종핵집단 구성과 관리 수행, 해외 수출 완료</li> <li>- VHSV 내성 유전자 발현분석을 통해 VHSV 내성 품종 개발을 위한 기초 자료 확립</li> <li>- 양식수의 미생물 분석으로 병원성 미생물 관리 시스템 확립</li> <li>- 천연소독제 개발을 통해 병원체 제어 매뉴얼 개발</li> </ul> </li> <li>○ 국내외 터봇 시장 확대 및 마케팅                     <ul style="list-style-type: none"> <li>- 박람회와 수출상담회에 참가하여 돌삼다보어 품종 홍보 진행</li> </ul> </li> <li>○ 돌삼다보어 수정란 대량공급 체계 구축                     <ul style="list-style-type: none"> <li>- 수온/광주기의 조절, 외인성 호르몬을 활용하여 성성숙 최적 조건 확립</li> <li>- 사육 시스템, 환경 제어, 수질 등을 조절하여 최적 사육 관리 매뉴얼 확립</li> </ul> </li> <li>○ 터봇 3배체 수정란 생산방법 확립 및 종자 평가                     <ul style="list-style-type: none"> <li>- 압력 자극이 약 67%의 3배체 유도율로 더 높은 결과를 보였으며 3배체 생산 기술 확립</li> </ul> </li> </ul>				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 터봇 우량종자의 기형, 생존율, 성장률 조사 등 체계적이고 과학적인 품질 관리 모델을 기반으로 국내 건강종자를 보급할 수 있을 것으로 기대함</li> <li>○ 터봇 육종 및 육종핵집단 후보군 선발 프로그램을 통해 최적의 생산라인을 구축하여 터봇의 국내외 산업화를 추진할 계획임</li> <li>○ 터봇 우량종자 개발로 국내 양식산업 활성화 및 수출증대는 물론 국민 먹거리의 다양성을 기대할 수 있음</li> <li>○ 터봇의 육종 기술 개발을 통해 어업 종사자들과 관련 기관들에 기초적인 육종법 및 관련 기술에 관하여 훈련 프로그램 개설을 통한 국익 증대 가능</li> <li>○ 국외(중국) 현지 기지를 구축하여 현지 적용 친어집단을 선발 및 관리하고 있으며, 현지 수정란 생산을 통한 터봇 종자 판매로 국내의 경제적 효과와 함께 국제경쟁력 강화를 통해 향후 고부가가치 양식산업이 활성화하는데 기여할 것임</li> </ul>				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>돌삼다보어</p>	<p>유전육종</p>	<p>터봇</p>	<p>내병성</p>	<p>3배체</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>DoI Samdaboeeo</p>	<p>Selective breeding</p>	<p>Turbot</p>	<p>Disease tolerance</p>	<p>Triploid</p>

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

## 〈 목 차 〉

1장. 연구개발과제의 개요 .....	8
1절. 연구개발 목적 .....	8
2절. 연구개발의 필요성 .....	9
3절. 국내외 기술개발 현황 .....	10
1. 국내현황 .....	10
2. 국외현황 .....	13
4절. 연구개발 범위 .....	15
5절. 연구개발 추진전략 및 방법 .....	20
6절. 연구개발 추진체계 .....	20
2장. 연구수행 내용 및 결과 .....	21
1절. 터봇 친어관리 및 종자 생산 시스템 .....	21
1. 사육 시스템 .....	21
2. 환경 변수 측정 및 자동 저장장치의 활용 .....	21
3. 광주기 조건을 조절할 수 있는 LED 적용 .....	22
4. PIT ID chip을 활용한 친어 관리 .....	22
2절. 국내 친어 관리 .....	23
1. 국내외 친어 수집 확보 .....	23
2. 돌삼다보어 F0세대 육종핵집단 후보군 양성 관리 (1차년도) .....	24
3. 터봇 F0세대 육종핵집단 후보군 양성 관리 (2차년도) .....	25
4. 육종핵집단 후보군 양성 관리 (3차년도) .....	27
5. 육종핵집단 후보군 양성 관리 (4차년도) .....	30
6. 육종핵집단 후보군 양성 관리 (5차년도) .....	31
3절. 국외 육종핵집단 구성 및 관리 .....	34
1. 해외 생산 기반 조성 .....	34
2. 국외 육종핵집단 구성 및 관리 .....	35
3. 국외 건강종자 대량생산체계 확립 .....	36
4. 현지 종자 생산 및 우량 자치어 양성 .....	37
4절. 안정적인 친어 관리 및 성성숙 유도 시스템 개발 .....	39
1. 돌삼다보어 친어 관리를 위한 수질 관리 .....	39
2. 수온/광주기 조절을 통한 성성숙 유도 및 연중생산에 의한 대량생산 체계 구축 .....	41
5절. 국내 수정란 생산 및 분양 실적 .....	49
1. 국내 터봇 수정란 생산 및 분양 실적 .....	49

6절. 국내외 돌삼다보어 종자 판매 및 수출 실적 .....	57
1. 국내 종자 판매 전략 및 실적 .....	57
2. 국외 해외기지 종자 수출 전략 및 실적 .....	61
7절. 돌삼다보어의 유전 육종 .....	73
1. 육종핵집단의 유전적 관리 .....	73
2. Microsatellite 마커를 활용한 유전형 및 유전적 다양성 분석 .....	75
3. 돌삼다보어 친어후보군의 지속적인 유전자원 수집 및 유전형 분석 .....	78
4. 육종핵집단의 유전 육종 방안 및 informant 그룹 확립 .....	85
5. 속성장 돌삼다보어 품종 개발 결과 .....	93
6. 돌삼다보어 고수온 내성 품종 개발 결과 .....	96
7. 병원성 미생물 내성 품종 개발 .....	99
8. VHSV 저항성 품종 개발을 위한 유전자 발현 연구 .....	103
9. 돌삼다보어의 유전체육종기술 확립을 위한 SNP chip 개발 .....	110
8절. 돌삼다보어 건강종자 생산체계 확립 .....	120
1. 건강종자 생산체계 확립을 위한 양식수 내의 해양미생물 군집분석 .....	120
2. 돌삼다보어 주요 감염질병 예방을 위한 천연소독제 후보물질 개발 .....	128
3. 제주지역 양식 터봇의 질병 모니터링 .....	131
9절. 품종보호를 위한 3배체 유도 종자 생산 .....	141
1. 3배체 기술 적용 방법 검토 .....	141
2. 터봇 3배체 수정란 유도 .....	144
3. 터봇 3배체 수정란 확인 .....	147
4. 돌삼다보어 3배체 연구 결과 .....	150
10절. 국내외 터봇 시장 확대를 위한 마케팅 .....	152
1. 국내외 터봇 시장 확대를 위한 마케팅 .....	152
11절. 연구개발성과 .....	158
1. 논문게재 성과 .....	158
2. 특허 성과 .....	159
3. 품종 및 브랜드 출원 .....	159
4. 친어(모패, 계통주) 확보 .....	160
5. 유전자원 .....	161
6. 국내매출액 .....	162
7. 종자수출액/수입대체 효과 .....	163
8. 기술실시 .....	166
9. 해외기지 구축 .....	166
10. 마케팅 전략수립 보고서 .....	166
11. 기타(시험생산 등) .....	167
12절. 연구결과 .....	171
1. 기술적 성과 .....	171
2. 경제적 성과 .....	172

3장. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도 .....	174
1절. 목표 .....	174
2절. 목표 달성여부 .....	174
3절. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등) .....	176
4절. 연구결과의 활용 계획 등 .....	176
붙임. 참고문헌 .....	177

# 1장. 연구개발과제의 개요

## 1절. 연구개발 목적

- 넙치류 중 경쟁력 있는 유럽산 넙치인 터봇을 우리나라의 양식 환경에 적합하며 최적의 생산성을 나타내는 종자로 개발하여 우량종자의 대량생산 및 국내 양식을 통한 터봇의 수출 확대 및 고품질 친어를 선발, 관리하여 우수한 종묘를 생산하여 국제적 경쟁력을 갖추어 개발한 터봇 종자의 국내외 산업화를 추진하고자 함

표 1. 세계 주요 터봇 양식생산국 현황 (출처:FAO)

(단위: 톤)

국가	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
중국	46,000	65,000	73,000	64,000	59,000	49,500	45,500	50,400
스페인	7,337	7,758	6,900	7,767	7,464	7,306	8,711	7,995
포르투갈	3,197	4,406	2,353	3,588	2,302	2,388	2,400	0
프랑스	0	0	0	280	300	300	300	300
네덜란드	260	180	100	100	100	100	100	100

- 또한, 우리나라의 수많은 양식업자의 새로운 종자 생산에 대한 관심과 욕구는 매우 높으나 현실적으로 친어의 확보와 관리에 어려움을 느껴 선불리 산업적 도전을 못하고 있는 현실임. 터봇 건강종자 생산체계의 확립과 구축을 통하여 안정적인 수정란 생산 시스템을 구축하고 친어 및 종자의 관리 시스템을 보급하고자 함
- 터봇의 우수한 친어집단 확보 및 국내외 종자 수출을 통해 앞으로 확산되는 넙치류 양식에서 우리나라가 세계 최고가 되어 넙치류 최대양식생산국인 중국이나 동남아 양식 시장에서 어류품종개발 의뢰와 파트너십을 견고히 하는 데 목적이 있음

## 2절. 연구개발의 필요성

- 우리나라 양식산업이 시작된 이후 20년 동안 주로 종자생산, 양성, 사육시설 등 주로 양식 대상 품종의 개발 및 사육기술 개발에만 치중하였으며, 그 결과 양식생산량은 비약적으로 증가함. 그러나 우량종자의 품종개량에 대한 개발 노력은 전무하여 열성화에 의한 성장 속도 둔화, 생존율 감소 등에 의한 양식 생산성의 저하라는 문제가 대두되었음
- 최근 지구 온난화 등 기후 이상으로 인한 양식 환경의 급격한 변화와 빈번하고 복합적으로 발생하고 있는 질병으로 인한 양식생물의 대량폐사 등 양식산업은 심각한 위기를 맞고 있음
- 우리나라의 어류 양식산업은 넙치와 조피볼락 양식에 편중되어 있는 불안한 구조를 갖기 때문에, 양식 대상종을 다양화하여 국내외 환경변화에 적극적으로 대응할 필요가 있음
- 이 문제들을 해결하기 위해서는 사육시설의 개선, 좋은 배합사료의 개발, 어병 예방 등 여러 가지가 필요하지만, 무엇보다도 근본적인 해결책은 육종기술 개발에 의한 속성장(fast-growing) 및 내병성(disease resistance)이 강한 우량품종을 개발하는 것임
- 넙치류는 최근 세계인들이 즐기는 흰 살 생선으로 특히 미국이나 유럽권역에서 스테이크용으로 각광받고 있는 품종이며 대구, 헐리벳 등 스테이크용 흰 살 생선의 어획량이 급감(1990년 970만 톤, 2000년 690만 톤, 2009년 550만 톤) 하는 추세이기 때문에 추후 공급 부족이 예상되며 양식을 통한 흰 살 생선 생산의 중요성은 날로 커질 것으로 예상됨
- 유럽산 넙치인 터בות은 유럽 연안이 본래 서식처인 어종으로 1970년대 초에 프랑스와 영국을 중심으로 양식 연구가 시작되어 양식환경, 질병 등에 대한 다양한 연구가 이루어지고 있음
- 터בות을 국내 양식어종으로 개발하기 위한 시도가 과거에 있었으나 양식기술이 확립되지 못하여 국내 양식어종으로 정착하는 데는 실패하였으나, 현재 국내뿐만 아니라 미국, 캐나다, 중국, 홍콩 등에 수출하여 새로운 수출 대상 양식 품목으로 각광을 받고 있음
- 우리나라의 양식산업이 미래를 좌우하는 첨단전략산업 기술로서, 생산성의 획기적인 향상을 통한 국제경쟁력 확보와 양식품종 종자국 지위를 갖는 양식선진국으로 도약하기 위해서는 무엇보다도 경제형질의 품종개량을 위한 육종기술 개발이 절실히 요구됨
- 종자산업 또한 종자주권 및 식량 안보와 직결된 미래 성장 동력산업으로 국제경쟁력 강화를 위해 국가 차원의 육성전략이 필요함

### 3절. 국내외 기술개발 현황

#### 1. 국내 현황

- 2009년 국립수산물과학원 육종센터에서 속성장 육종 넙치(selected line of olive flounder cultured, SF) 수정란의 부화율 및 기형률, 자치어의 성장을 일반 넙치(unselected line of olive flounder cultured, UF)와 비교하였음
- SF 및 UF구의 전장과 무게를 비교한 결과 속성장 육종 넙치에서 전장 및 무게가 일반 넙치보다 각각 20.7%, 43% 빠른 성장을 보였음(민병화 et al., 2009)

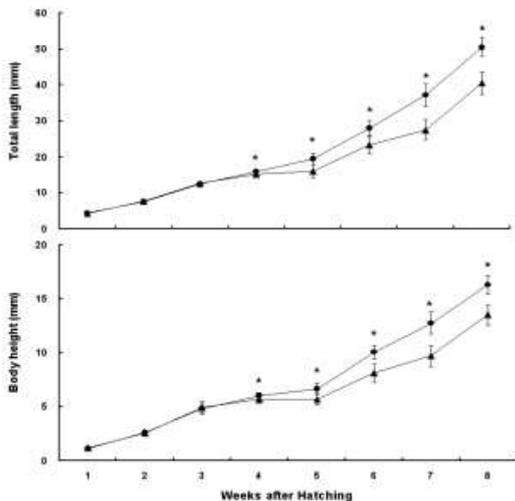


Fig. 3. Total length and body height of selected line for rapid growth (SF, ●) and unselected line (UF, ▲) of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* cultured. Values are mean±SD (n=60). \*P<0.001.

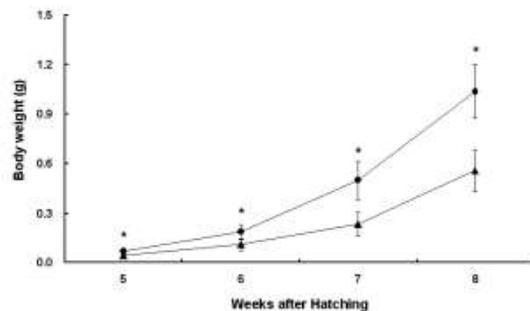


Fig. 4. Body weight of selected line for rapid growth (SF, ●) and unselected line (UF, ▲) of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* cultured. Values are mean±SD (n=60). \*P<0.001.

그림 5. 국내 속성장 육종 넙치의 성장도 비교

- 2012년 국립수산물과학원 육종연구센터에서 선발육종기술을 이용한 북방전복 성장형질의 지속적인 유전적 개량을 목적으로 연구를 진행함. 2004년도에 유전적 다양성을 고려하여 생산된 전복을 모패로 하여 2008년도에 육종전복을 생산하였으며, 생산된 육종전복 선발 1세대의 성장형질에 관한 육종효율검정을 수행하였음
- 분석 결과 45일째 및 90일째에 있어 육종구 (SA) 는 대조구 (CA) 보다 모든 성장 형질에 있어 유의하게 빠른 것으로 나타났음(박철지 et al., 2012)

**Table 1.** The growth and survival rates of selected abalone (SA) for rapid growth and control abalone (CA).

Date	Growth Traits	SA	CA
Initial day	S (%)	100%	100%
	SL (mm)	35.13 ± 0.83	35.13 ± 0.73
	SB (mm)	23.66 ± 0.78	23.57 ± 0.69
	TW (g)	5.01 ± 0.48 <sup>*</sup>	4.80 ± 0.46
45th day	S (%)	97.4%	96.3%
	SL (mm)	38.91 ± 1.48 <sup>*</sup>	38.00 ± 0.38
	SB (mm)	26.53 ± 1.15 <sup>*</sup>	25.66 ± 1.07
	TW (g)	7.08 ± 1.01 <sup>*</sup>	6.24 ± 0.86
90th day	S (%)	95.8%	95.3%
	SL (mm)	42.40 ± 2.77 <sup>*</sup>	41.30 ± 2.62
	SB (mm)	29.09 ± 2.04 <sup>*</sup>	27.98 ± 1.95
	TW (g)	8.98 ± 1.93 <sup>*</sup>	7.96 ± 1.62

Value : mean ± SE of duplication.

S : survival rate, SL : shell length, SB : shell breadth, TW : total weight.

<sup>\*</sup> Indicates a significant difference between SA and CA at p < 0.0001.

그림 6. 선발육종기술을 적용한 북방전복의 성장도 비교

- 2014년 국립수산과학원에서는 근친교배에 의한 근교약세 현상이 생존율 및 성장형질에서 나타나는지 확인하기 위한 연구를 진행하였음. 연구 결과 10개월째의 성장에 있어 근친교배구가 비근친교배구보다 성장속도가 느린 것으로 나타남(박철지 et al., 2014)

**Table 2.** Survival rate in inbred and outbred at 4 months and 10 months

Family	Survival rate	
	4 months	10 months
Inbred	AA	14.5% (29/200)
	BB	19.0% (38/200)
Outbred	ww1	38.5% (77/200)
	ww2	28.0% (56/200)

\* P < 0.05 (t-test, between mean of inbred and outbred)

**Table 3.** Shell length in inbred and outbred at 4 months and 10 months

Family	Fertilization rate (%)	SL (mm)	
		4 months	10 months
Inbred	AA	8.46 <sup>b</sup> ± 0.233	28.53 <sup>c</sup> ± 1.269
	BB	8.93 <sup>ab</sup> ± 0.149	29.01 <sup>c</sup> ± 0.931
Outbred	ww1	8.99 <sup>ab</sup> ± 0.200	35.30 <sup>a</sup> ± 0.727
	ww2	9.35 <sup>a</sup> ± 0.172	32.70 <sup>b</sup> ± 0.646

a, b, c : Means in the same column with different letter are statistically significant at 5% level of significance.

그림 7. 근교약세 현상 분석을 위한 생존율 및 성장도 비교

- 국립수산물과학원 육종연구센터에서는 북방전복의 유전학적 연구의 효율적인 분석을 위하여 microsatellite를 이용한 multiplex PCR 방법을 개발하였음(박철지 et al., 2014)
- 총 6개의 microsatellite locus를 한 번의 PCR 증폭으로 분석 가능함. 높은 친자확인 성공률과 대량의 시료 처리를 필요로 하는 경우에 시간 절약 및 비용 절감이 가능하며, 친자확인, 가계분석, 집단유전학 및 계통분류학 분석에 유용하게 사용할 수 있을 것이라 보고 되었음

**Table 3.** Percentages of offspring assigned to the correct parental pair in 20 families

Marker No.	Locus	Success rate	Marker combinations (success rate)
1	<i>Hdh1321</i>	25.7%	1 (25.7%)
2	<i>Hdh512</i>	19.4%	1 + 2 (45.5%)
3	<i>Awb017</i>	11.4%	1 + 2 + 3 (78.5%)
4	<i>Hdh145</i>	5.5%	1 + 2 + 3 + 4 (88.9%)
5	<i>Awb098</i>	6.3%	1 + 2 + 3 + 4 + 5 (99.4%)
6	<i>Awb083</i>	2.5%	1 + 2 + 3 + 4 + 5 + 6 (100%)

그림 8. 북방전복의 microsatellite 마커를 활용한 친자확인 분석

- 국립수산물과학원에서는 2004년부터 유전자 표지를 이용한 분자유종 및 전통적인 선발 육종을 접목하여 넙치, 전복 등 우리나라 주요 양식생물을 대상으로 유전학적 다양성을 고려한 육종기술 및 우량 육종 신품종을 개발하고 브랜드화 및 산업화 보급을 통하여 국내 양식산업의 생산성을 향상시키고 양식산업을 과학적 첨단 미래 전략산업으로 육성하고자 함

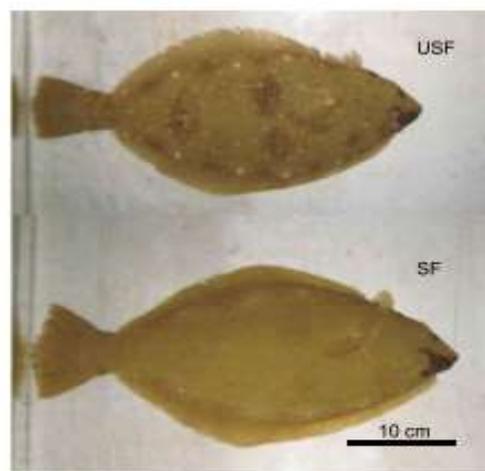


Fig. 1. Qualitative comparisons of body size of selected strain for rapid growth (SF) and unselected strain (USF) of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* fed either moist pellet. Each fish was sampled at the end of experiment. The fish shown are generally representative of their respective experimental groups.

그림 9. 선발육종 넙치와 일반넙치의 크기 비교

- 국립수산물과학원에서 2010년 선발 육종넙치 *Paralichthys olivaceus* 및 일반넙치의 성장 비교한 논문으로 5개 지역의 자연산 넙치와 4개지역의 양식넙치를 수집하여 유전적 다양성 및 유전적 유연관계를 근거로 교배지침을 작성하여 1:1 인공수정을 통해 1세대를 생산하여 1세대 중 성장이 빠른 혈통을 선발하여 2세대 육종넙치(SF)를 생산하여 일반 양식넙치(USF)와 성장을 비교하였음
- USF보다 SF에서 많은 사료 섭취량이 있었던 것으로 판단되며, 많은 사료 섭취량은 사료내 단백질 섭취량의 증가를 의미하는 것으로 단백질 섭취가 더 많았던 SF구가 성장이 더 빨랐던 것으로 판단됨(민병화 et al., 2010)

## 2. 국외 현황

- 미국에서는 국가 과학재단(NSF) 등을 중심으로 연어과 어류 및 차넬메기, 틸라피아 등과 같은 담수 어류를 대상으로 품종개량을 위한 염색체 조작 잡종화 및 전통적 선발육종을 추진하였음. 2004년 방사무늬감의 TNT-detoxifying strain, 내병성 및 무병 새우 개발, 참굴의 육종연구 수행 등 해조류, 갑각류, 패류 등에서 일부 성과를 거두고 있다고 보고 되었음(Bernasconi et al., 2004)
- 1968년 노르웨이에서는 연어를 대상으로 육종연구가 시작되었으며, 유전학적 다양성 유지에 근거하는 교배 프로그램을 개발하여 성장, 체색, 성 성숙, 내병성, 체형 등 22가지 개선된 형질을 가진 다양한 연어들을 개발하여 산업화하고 있음(Gonzalez et al., 2017)
- 최근에는 연어와 틸라피아에서 확보한 유전학적 다양성 유지에 근거하는 육종기술을 대구 터봇 등에도 적용하여 육종프로그램을 개발하고 있음
- 대표적인 예로 GjØen et al.(1997)은 유전능력을 개량하여 양식산업의 효율을 높이기 위해 연어를 대상으로 육종프로그램을 개발함. 체중, 성 성숙 나이, 질병에 대한 생존력, 총지방함량, 지방 조직의 양 등 7가지의 다른 특성을 개량의 목표로 하였으며, 여러 형질에 대한 선발육종으로 시장성을 확보하였음(Gjeren et al., 1997).

Table 1. Breeding goal in the Norwegian breeding programme.

Year	Trait
1975	Growth (G)
1981	G+Age sexual maturation (SM)
1993	G+SM+Disease resistance (DR)
1994	G+SM+DR+Flesh colour (C)
1995	G+SM+DR+C+Body composition

그림 10. 양식산업의 효율 향상을 위한 육종 형질의 단계적 목표

- 2006년 스페인에서는 자외선에 의한 정자의 유전적 불활성화를 통해 자성발생 2배체어를 유도하였음. 부화 후 microsatellite 마커를 이용하여 유전력을 분석한 결과, 터봇의 주요 성 결정 유전성분이 암컷 동질성(female homogamety)의 영향을 받는 것을 확인함. 성장이 빠른 암컷 발생을 유도함으로써 터봇 양식산업의 생산성과 경제성을 향상시킬 수 있다 보고되었음(CAL et al., 2006)

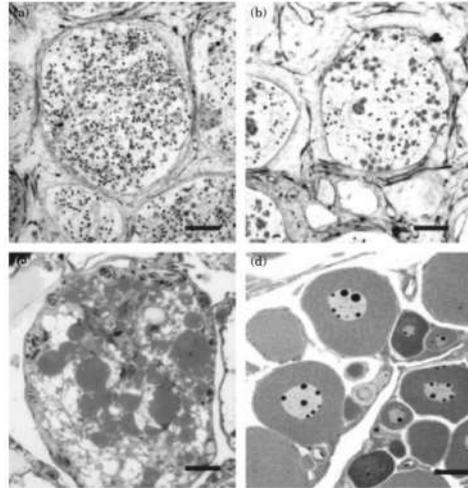


FIG. 5. Histological sections of gonads from diploid and gynogenetic diploid turbot of 24 months of age. (a) Diploid testes, (b) gynogenetic diploid testes, (c), diploid ovary and (d) gynogenetic diploid ovary. Bar = 30 μm for (a), (b); 70 μm for (c), (d).

그림 11. 자외선 조사를 통한 자성발생 유도

#### 4절. 연구개발 범위

구분 (연도)	세부프로젝트명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차 년도 (2017)	터봇 국내외 시장 개척과 우량종자 대량생산 및 판매 (위탁:터봇 건강종자 생산관리 체계 구축)	0세대 터봇 친어 교배지침 작성	100	- 최소 15세대 이상의 시뮬레이션 결과를 이용한 최대 근친도 허용치와 선발효과 예상치 분석 - optimal contribution, 선발형질의 유전력이 계산 가능한 교배지침
		해외 생산 기반 조성	100	- 입식 가능한 양어장 확보 및 상업적 수준의 종자 또는 친어 해외 이송 - 해외 현장 입식 및 현장 적응 실험
		국내 터봇 판매 전략 수립	100	- 국내 양식 어가에 대한 터봇 홍보 및 판매 전략 수립
		친어로부터 수정란 검사 (위탁)	100	- 수정란 대량생산 및 난질 검정체계, 건강한 자치어 생산 확인(QC체크 매뉴얼 작성)
		종자의 현장 적용 및 질병관리(위탁)	100	- 부화조건 확립(1단계 부족분 완결) - 질병 발병시 원인체 분리 및 병원성 확인
	터봇 친어관리 및 수정란 생산 및 보급	0세대 터봇 친어 선발 및 사육 관리	100	- 국내외 사육 중인 터봇에서 육종핵집단 후보군 선발 및 관리 - 0세대 터봇 개체이력 관리 및 모니터링 - F1세대 육종핵집단 후보군 양성 관리
		터봇 수정란 생산	100	- 수온/광주기 조절을 통한 인위적 성성숙 유도에 의한 터봇 수정란 생산 및 평가
		터봇 3배체 수정란 생산 방법 확인	100	- 인공수정 후 3배체 수정란 생산 방법 및 3배체 확인 방법 확인

구분 (연도)	세부프로젝트명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
2차 년도 (2018)	터봇 국내외 시장 개척과 우량종자 대량생산 및 판매 (위탁:터봇 건강종자 생산관리 체계 구축)	F1세대 육종핵집단 후보군 구성	100	- F1세대 육종핵집단 후보군 유전력 평가 및 선발 - 가계별 환경 적응도 분석 및 선발 인덱스 작성 - 고수온 환경에 대한 터봇의 적응력 확인
		현지 종자 생산 및 우량 자치어 양성	100	- 현지 종자 생산 및 판매와 현지 친어후보군 관리
		국내외 터봇 시장 확보	100	- 현지 특성에 따른 종자 판매 전략 수립 - 국내 양어장에 터봇 종자 판매
		바이러스성 질병체 VHSV 방역을 위한 천연소독제 후보물질 추출 후보군 선정(위탁)	100	- 터봇 치어기 바이러스 방역에 효과적인 천연소독제 후보물질 추출 - 생물학적 원료 후보군 선정
		바이러스성 질병체 VHSV 방역을 위한 천연소독제 추출법 고안(위탁)	100	- Enveloped virus에 효과적인 친환경 천연소독제의 경제적인 생산방법 고안
	터봇 친어관리 및 수정란 생산 및 보급	F1세대 육종핵집단 후보군 선발 및 관리	100	- 국내·외 사육 중인 터봇에서 육종핵집단 후보군 선발 및 관리 - 친어 세대 개체이력 관리 및 모니터링 - F1세대 육종핵집단 후보군 선발 및 사육 관리
		터봇 수정란 대량 공급 체계 구축	100	- 수온/광주기 조절을 통한 성성숙 유도에 의한 터봇 수정란 생산 및 평가 - 터봇 수정란의 연중생산에 의한 대량생산을 위한 체계 구축 - 터봇 수정란 난질을 개선을 위한 급이 및 성성숙 조건 평가
		터봇 3배체 수정란 생산 방법 확립	70	- 3배체 수정란 생산 방법 및 조건에 따른 3배체 발생정도, 부화율, 기형률 등을 평가 - 인공수정 후 3배체 수정란 생산 방법 확립 - 터봇 3배체 종자의 비파괴적 분석방법 연구

구분 (연도)	세부프로젝트명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
3차 년도 (2019)	터봇 국내외 시장 개척과 우량종자 대량생산 및 판매 (위탁:터봇 건강종자 생산관리 체계 구축)	국내외 육종핵집단(국내)과 친어후보군(중국) 구성 및 관리	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- F1세대 육종핵집단 구성 및 모니터링</li> <li>- 선발형질들의 선발효과 평가를 위한 informant 그룹 구성</li> <li>- 중요 추가 육종형질 평가</li> <li>- 국외 현지 적응 친어집단 선발 및 관리</li> </ul>
		국내외 건강종자 생산체계 확립	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내 참여기업을 활용한 안정적인 종자 생산체계 구축</li> <li>- 국외 현지 수정란 및 종자 생산체계 구축</li> <li>- 건강 종자 생산을 위한 세균성 질병 관련 연구(위탁)</li> </ul> <p>: 터봇 종자의 세균성 질병 발병양상 분석 : 터봇 종자의 세균성 질병 초기 진단 및 대응 매뉴얼 작성</p>
		국내외 터봇 시장 확대 및 마케팅	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내 양식업체에 터봇 종자 판매</li> <li>- 국외 현지 유통체계 안정화 및 확대</li> <li>- 국내외 터봇 시장에 대한 마케팅 활동</li> </ul>
	터봇 친어관리 및 수정란 생산 및 보급	F1세대 육종핵집단 후보군 선발 및 세대별 친어 관리	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- F1세대 육종핵집단 후보군 양성 및 사육 관리</li> <li>- 국내외 사육 중인 터봇에서 육종핵집단 후보군 선발 및 관리</li> <li>- 친어 세대 개체이력 관리 및 모니터링</li> </ul>
		터봇 수정란 대량 공급 체계 구축	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 터봇 수정란의 연중생산에 의한 대량생산을 위한 체계 구축</li> <li>- 수온/광주기 조절을 통한 성성숙 유도 시스템 연구 및 수정란 생산 및 평가</li> <li>- 터봇 수정란 난질을 개선을 위한 급이 및 성성숙 조건 평가</li> </ul>
		터봇 3배체 수정란 생산 방법 및 유도 확인	90	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 인공수정 후 3배체 수정란 기술 적용 및 생산 방법 확립</li> <li>- 3배체 수정란 생산 방법 및 조건에 따른 3배체 발생정도, 부화율, 기형률 등을 평가</li> <li>- 터봇 3배체 종자의 비파괴적 분석방법 연구 및 유도 확인</li> </ul>

구분 (연도)	세부프로젝트명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
4차 년도 (2020)	터봇 국내외 시장 개척과 우량종자 대량생산 및 판매 (위탁:터봇 건강관리 생산체계 구축)	국내외 육종핵집단 구성 및 관리	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- F1세대 육종핵집단 후보군 구성</li> <li>- 한국환경에 적응력 높은 육종핵집단 구축을 위한 형질 분석</li> <li>- 중국 현지화를 위한 친어후보군 관리</li> </ul>
		국내외 건강종자 대량생산체계 확립	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내 참여기업을 활용한 안정적인 종자 생산체계 구축</li> <li>- 터봇 주요 질병에 대한 내병성 향상 프로그램 구축</li> <li>- 국외 현지 수정란 및 종자생산 체계 구축</li> </ul> 터봇 건강종자 생산을 위한 질병 관련 연구(위탁) : 터봇 종자에 대한 <i>Vibrio</i> spp. 감염 대응 방법 구축 : 제주지역 양식 터봇 질병 모니터링
		국내외 터봇 시장 확대 및 마케팅	90	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내 양식업체에 터봇 종자 판매</li> <li>- 국외 현지 유통체계 안정화 및 확대</li> <li>- 국내외 터봇 시장에 대한 마케팅 활동</li> </ul>
	터봇 친어관리 및 수정란 생산 및 보급	친어 세대, F1세대 육종핵집단 관리 및 F1세대 육종핵집단 후보군 선발	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내외 사육중인 터봇에서 육종핵집단 후보군 선발 및 관리</li> <li>- 친어 세대 ~ F1세대 육종핵집단 개체이력 관리 및 모니터링</li> <li>- F1세대 육종핵집단 후보군 추가 선발 및 사육 관리</li> </ul>
		터봇 수정란 대량 공급 체계 구축	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 수온/광주기 조절을 통한 성성숙 유도에 의한 터봇 수정란 생산 및 평가</li> <li>- 터봇 수정란의 연중생산에 의한 대량생산을 위한 체계 구축</li> <li>- 터봇 수정란 난질 개선을 위한 급이 및 성성숙 조건 평가</li> <li>- F2세대 수정란 생산 및 보급</li> </ul>
		터봇 3배체 수정란 생산방법 확립 및 종자 평가	80	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 인공수정 후 3배체 수정란 생산 방법 확립</li> <li>- 터봇 3배체 종자의 분석 방법 연구</li> <li>- 3배체 수정란 생산에 따른 정상 개체와의 부화율, 기형률 등을 평가</li> </ul>

구분 (연도)	세부프로젝트명	세부연구내용	달성도 (%)	연구개발 수행내용
5차 년도 (2021)	터봇 국내의 시장 개척과 우량종자 대량생산 및 판매 (위탁:터봇 건강종라 생산관리 체계 구축)	국내외 육종핵집단 구성 및 관리	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- F2세대 육종핵집단 후보군 구성</li> <li>- 높은 생산성을 위한 선발형질들의 지속적 고강도 선발</li> <li>- 유전율 및 근친도 감시 시스템 구축</li> <li>- 중국 현지화를 위한 친어 및 친어후보군 관리</li> </ul>
		국내외 건강종자 대량생산체계 확립	90	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내 참여기업을 활용한 안정적인 종자 생산체계 구축</li> <li>- 국외 현지 수정란 및 종자 생산체계 구축</li> <li>- 수출시장 수요에 대응하는 생산 시스템 구축</li> <li>- 터봇 건강종자 생산을 위한 질병 관련 연구(위탁) : 터봇 건강종자 생산을 위한 질병관리 매뉴얼 현장 적용 방법 구축 : 제주지역 양식 터봇 질병 모니터링</li> </ul>
		국내외 터봇 시장 확대 및 마케팅	90	- 국내외 지속적인 생산량 확대 및 시장 확보
	터봇 친어관리 및 수정란 생산 및 보급	F1세대 육종핵집단 후보군 선발 및 0, F1세대 육종핵집단 관리	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내외 사육중인 터봇에서 육종핵집단 후보군 선발 및 관리</li> <li>- 0 ~ F1세대 육종핵집단 개체이력 관리 및 모니터링</li> <li>- F1세대 육종핵집단 후보군 추가 선발 및 사육 관리</li> <li>- F2세대 육종핵집단 후보군 추가 선발 및 사육 관리</li> </ul>
		터봇 수정란 대량 공급 체계 구축	90	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 수온/광주기 조절을 통한 성성숙 유도에 의한 터봇 수정란 생산 및 평가</li> <li>- 터봇 수정란의 연중생산에 의한 대량생산을 위한 체계 구축</li> <li>- 터봇 수정란 난질 개선을 위한 급이 및 성성숙 조건 평가</li> <li>- 돌삼다보어 F2세대 터봇 수정란 생산 및 보급</li> </ul>
		터봇 3배체 수정란 생산방법 확립 및 종자 평가	90	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 인공수정 후 3배체 수정란 생산 방법 확립</li> <li>- 터봇 3배체 종자의 분석 방법 연구</li> <li>- 3배체 수정란 생산에 따른 정상 개체와의 부화율, 기형률 등을 평가</li> </ul>

## 5절. 연구개발 추진전략 및 방법

### ○ 연구개발 추진전략 및 방법

최종 목표					
<ul style="list-style-type: none"> <li>· 터봇 우랑종자의 해외시장 수요 창출과 공급으로 해외 및 국내 산업화</li> <li>· 터봇 건강종자 생산체계의 확립과 미의 생산 체계의 구축</li> </ul>					
년도	1차년도(2017)	2차년도(2018)	3차년도(2019)	4차년도(2020)	5차년도(2021)
세부목표1 국내외 시장 개척 우랑종자 대량생산 및 판매	지속적인 질병 관리 및 대량생산 검정체계 구축				
	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 수정란 검정 체계 구축</li> <li>· 종자의 건강도 측정</li> <li>· 현장적용 및 질병관리</li> </ul>			<ul style="list-style-type: none"> <li>· 상품성 검정 체계 구축</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 품질관리 시스템 구축</li> </ul>
	육종핵집단 구성				
	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 1세대 친어 교배지침 작성</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 1세대 육종핵집단 구성</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 2세대 육종핵집단 구성</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 3세대 육종핵집단 구성</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 육종프로그램 안정화</li> </ul>
	해외시장 진출				
<ul style="list-style-type: none"> <li>· 해외 생산 기반 조성</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 현지 종자 생산</li> <li>· 우랑 자치어 양성</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 안정적인 현지 우랑종자 생산 / 유통</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 수정란 생산</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 친어 선발 및 양성</li> <li>· 지속적인 생산량 확대</li> </ul>	
세부목표2 친어 관리 수정란 생산 및 보급	터봇 친어 선발 및 관리				
	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 1세대 친어 선발 관리</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 2세대 친어 사육관리</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 2세대 친어 선발 관리</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 2세대 친어 사육관리</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 3세대 친어 선발 관리</li> </ul>
	3배체 터봇 종자 생산 기술 확립				
안정적인 수정란 생산 및 보급					

## 6절. 연구개발 추진체계

### ○ 연구개발 추진체계



## 2장. 연구수행 내용 및 결과

### 1절. 터봇 친어관리 및 종자 생산 시스템

- 터봇 친어 및 종자의 안정적인 관리를 위해 다양한 사육환경 항목을 관리함. 수온, 염분, DO, pH 등 일반적인 수질 환경은 매일 측정하여 관리하며 주기적으로 수소이온농도, 용존산소, 일반세균, 암모니아, 질소 등 수질 분석을 통해 사육 환경을 일정하게 유지함

표 2. 터봇을 사육하는 공급 원수와 수조 내 사육수 분석

측정 항목	공급 원수	사육수
수온	평균 16.5°C (16.2 ~ 17.2°C)	평균 16.5°C (16.2 ~ 17.2°C)
수소이온농도(pH)	평균 7.9	평균 7.9
용존산소(DO)	7 ~ 9 ppm	7 ~ 8 ppm
일반세균	평균 3.3 CFU/mL	평균 4.3 CFU/mL
암모니아성 질소(NH3-N)	평균 0.05 ppm	평균 0.07 ppm
아질산성 질소(NO2-N)	N.D.	N.D.
질산성 질소(NO3-N)	평균 0.03 ppm	N.D.

#### 1. 사육 시스템

- 최적의 사육환경 조성을 위하여 사육수의 가온 및 감온이 가능한 히트펌프를 설치하여 사육 지하해수는 연중 17°C 내외로 수정란 생산을 위한 성성숙 유도 수조에는 히트펌프를 설치하여 8~20°C 까지 조절함. 터봇 생산에 활용되는 지하해수는 용존산소가 낮아 (2~5ppm) 산소발생기 또는 액화산소를 사용하여 7~9ppm을 유지하였으며, 사육 수조의 높이는 50cm로 적용하여 사육 관리의 용이성 및 사육수 이용의 최소화를 유도함

#### 2. 환경 변수 측정 및 자동 저장장치의 활용

- 양식장 내 수온, DO, pH 등의 상시 계측 및 매시간 data logger에 적재토록 구성하여 친어 양식 수조에 적용함. ATmega328 (Atmel Corporation, San Jose, CA)를 MCU로 사용하는 arduino pro mini 혹은 arduino nano를 주 보드로 AtlasScientific 사(Brooklyn, NY)의 pH probe, DO probe, ORP probe, Salinity probe와 이를 운용하기 위한 EZO series의 컨트롤 보드를 IIC 통신으로 연결하였으며, 온도 측정 센서는 ENV-TMP (AtlasScientific, Brooklyn, NY) 프로브를 이용 serial 통신으로 또는 DS18B20 온도센서(Maxim Intergrated, San Jose, CA)를 이용 1-wire 통신으로 연결함. 실시간 계측된 측정값들은 시중의 PCD 8448 액정 디스플레이에 표출되도록 하고, DS1307 real time clock(Maxim integrated products, Sunnyvale, CA)을 통해 현재 시각을 확인한 후 매시 정각마다 log 기록을 micro SD shield를 이용해 남기도록(SPI 통신) 설계하였으며,

주기적으로 log 파일을 회수하여 수온 등을 확인함. 측정값의 기록 장치는 실험의 내용에 따라 적절히 변경하여 활용함. 수온에 따른 터봇 치어의 성장 기간 동안 수조의 온도를 항상 표출하고 매시간 데이터베이스에 저장함

### 3. 광주기 조건을 조절할 수 있는 LED 적용

- 수조 내에서도 광을 자연에 가깝게 재현할 수 있는 LED 조명을 활용함. 친어 관리용 LED 조명은 2가지의 기능을 구현하도록 제작하였으며, 성성숙을 위한 일광 시간 변화 스케줄을 매일 자동으로 점등 시각 및 소등 시각을 계산하여 동작토록 적용하였음. LED 조명등은 먼저 시간과 밝기로 구성된 변곡점들을 등록한 후, 정해진 기간동안 변화될 하루 중 일광 시간 등의 프로그램을 등록하도록 함. 각 변곡점들은 현재 20개 이상 등록하도록 구성되어 있고, 조명용 보드는 real time clock을 통해 현재 시각을 확인한 후 현재 출력될 광량을 연산하여 매초 지정된 PWM 출력을 약 0.5% 단위로 조정함으로써 광조절에 의한 스트레스를 줄이는 방식으로 활용함. 연산된 PWM 출력은 MOSFET을 이용 12V 출력으로 전환하여 LED 밝기를 조절하도록 하드웨어를 구성하였음

### 4. PIT ID chip을 활용한 친어 관리

- 육종핵집단 후보군의 경우 모든 개체를 면밀하게 관찰하고 관리하기 위해 PIT chip을 삽입하였으며, 유전형 분석을 통해서 새로이 육종핵집단을 구성하고 개체관리 시스템을 운영하였음



그림 14. 체중, 체장 측정 및 PIT chip 삽입을 통한 개체 관리

- 사육 관리하던 개체 중 기형이 아닌 정상 개체이며 건강도와 성장률이 우수한 것으로 평가되는 친어후보군을 선발하여 육종핵집단 후보군으로 사육 관리
- 선발조건
  - 성장률
  - 이상적 체형
  - 환경적응력
  - 건강도(체색, 비만도 등)
  - 질병감염 확인
  - 유전자 검사 위한 개체식별

## 2절. 국내 친어 관리

### 1. 국내의 친어 수집 확보

- 선행연구에서의 터봇 육종핵집단 후보군의 수집은 1단계 연구 기간 전반에 걸쳐 이루어졌으며, 국내에서 수집한 터봇의 일부는 그 유래가 프랑스와 영국, 일부는 중국에서 도입된 후 양성된 개체들인 것으로 파악되었음
- 1단계 연구 기간 수집된 프랑스산 터봇의 경우 “France Turbot” 社の 치어를 2회 도입하여 사육에 성공한 개체 중 외적 형질을 평가하여 선발된 개체들임



그림 15. 프랑스에서의 치어 도입 협의 및 운송

- 1차년도 연구 기간 제주 지역의 어가에서 사육되고 있는 터봇 중에서 기형이 아닌 정상 개체 중 건강도와 성장률이 우수한 것으로 평가되는 140마리를 선발 친어후보군으로 선발하였음



그림 16. 신규 선발된 F0 친어후보군

## 2. 돌삼다보어 F0세대 육종핵집단 후보군 양성 관리 (1차년도)

- 1단계 연구 기간인 2016년, 육종프로그램을 적용하여 생산된 터봇 개체 중 관능검사를 통해 외적 형질이 우수하며, 기형이 아닌 정상적인 개체 중 병이 없는 개체를 돌삼다보어 F0 친어후보군으로 선발하였음



그림 17. 육종프로그램에 의해 생산된 개체 중 F0 친어후보군 선발

- 친어에서 부·모 개체 확인 및 유전적 거리 계산을 위해 샘플을 채취하여 분석을 진행하였으며, 개체의 전장과 체중을 계측하였음

표 3. 친어후보군으로 선발된 개체의 계측 결과

구 분	개체 수(마리)	전장(cm)	체중(kg)	비 고
암 컷	300	41.9	1.60	
수 컷	150	32.8	0.68	
계/평균	450	38.9	1.29	

- 돌삼다보어 선발개체들을 포함하여 사육 관리 중인 F0 친어의 관리 현황을 정리하였음

표 4. 현재 사육 중인 국내외 터봇 친어 및 F0 친어후보군 관리 현황

구 분	사육 개체(마리)	비 고
친 어	국 내 산	1392
	프랑스산	845
계	2237	590마리 추가 선발

### 3. 터봇 F0세대 육종핵집단 후보군 양성 관리 (2차년도)

- 2차년도 연구 기간 제주 지역의 어가에서 사육되고 있는 터봇 중에서 기형이 아닌 정상 개체 중 건강도와 성장률이 우수한 것으로 평가되는 140마리를 육종핵집단 후보군으로 추가 선발하였으며 그 외적인 형질을 계측하였음



그림 18. 추가 선발 진행한 F0 육종핵집단 후보군

표 5. 2차년도 육종핵집단 후보군으로 선발된 터봇의 계측 결과

구 분	개체 수(마리)	전장(cm)	체중(kg)	비 고
암 컷	90	52.3	3.15	
수 컷	50	40.1	1.34	
계/평균	140	46.2	2.24	

- 육종핵집단 후보군은 선발 직후 친어 선발과 교배지침 작성을 위한 유전적 거리 계산 등을 위해 유전자원 샘플을 채취하여 분석을 진행하였음



그림 19. 신규 선발된 육종핵집단 후보군의 암수 확인 및 개체 측정

- 1차년도에 선발된 터봇 F0 육종핵집단 후보군을 친어로 양성하기 위하여 연중 사육 관리하였으며, 육종핵집단 후보군으로 선발 후 주기적으로 그 성장 정도를 계측하였음

표 6. 육종프로그램에 의해 생산된 터봇 F0의 성장 추이

측정일자	암 컷		수 컷		평 균	
	전장(cm)	체중(kg)	전장(cm)	체중(kg)	전장(cm)	체중(kg)
17.10	41.9	1.6	32.8	0.7	38.9	1.3
18.01	44.5	2.1	35.8	0.9	41.4	1.9
18.04	47.1	2.7	38.0	1.0	44.1	2.5
18.07	49.7	3.1	40.4	1.2	46.5	2.7
18.09	50.2	3.3	40.3	1.3	47.8	2.8

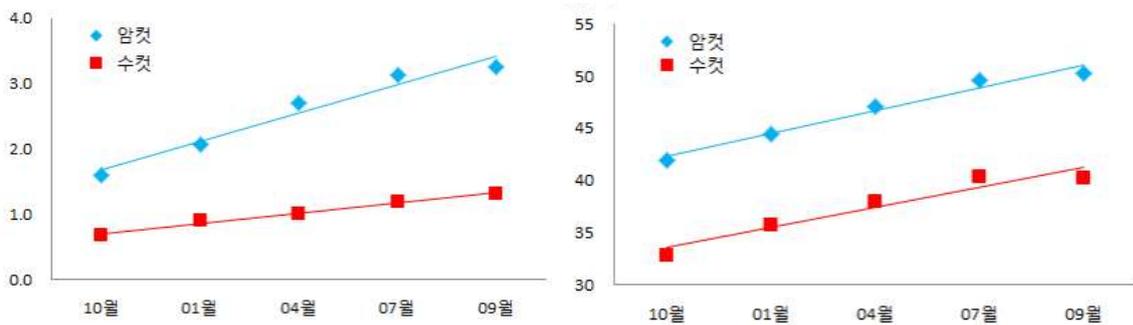


그림 20. 터봇 F0의 성장 분석

표 7. 현재 사육 중인 국내외 터봇 친어 및 육종핵집단 후보군 관리 현황

(2018. 12 기준)

구 분	사육 개체(마리)	비 고
친어	국내산	1131
	프랑스산	570
계	1701	

#### 4. 육종핵집단 후보군 양성 관리 (3차년도)

- 3차년도에 친어후보군으로 수집한 돌삼다보어는 2차년도에 생산한 돌삼다보어 F1 종자로 제주도 어가(하도어촌계 양식장)에 입식하여 사육함
- 돌삼다보어 F1 종자는 정기적으로 하도어촌계 양식장을 방문하여 사육 관리 현황, 건강도 등을 파악하고, 성장이 우수한 그룹을 선발하여 해연에 입식함
- 해연과 하도어촌계에서 사육하고 있는 돌삼다보어 F1 친어후보군의 건강도, 성장을 비교하기 위해 주기적으로 계측하였음
- 친어후보군 선발은 하도어촌계에서 사육하던 친어후보군 중 성장 및 건강도가 우수한 그룹을 선발하였음

표 8. 돌삼다보어 F1 친어후보군 성장 계측

일자	하도어촌계 양식장		해연		비고
	전장(cm)	체중(g)	전장(cm)	체중(g)	
18.07	11.2	26.5			
18.09	16.0	83.5			
18.11	20.5	173.3	22.1	223.2	
19.01	25.5	392.2	26.4	412.8	
19.03	29.8	620.8	29.6	600.5	
19.05	33.4	845.0	33.0	824.1	
19.07	35.0	974.3	34.2	922.5	

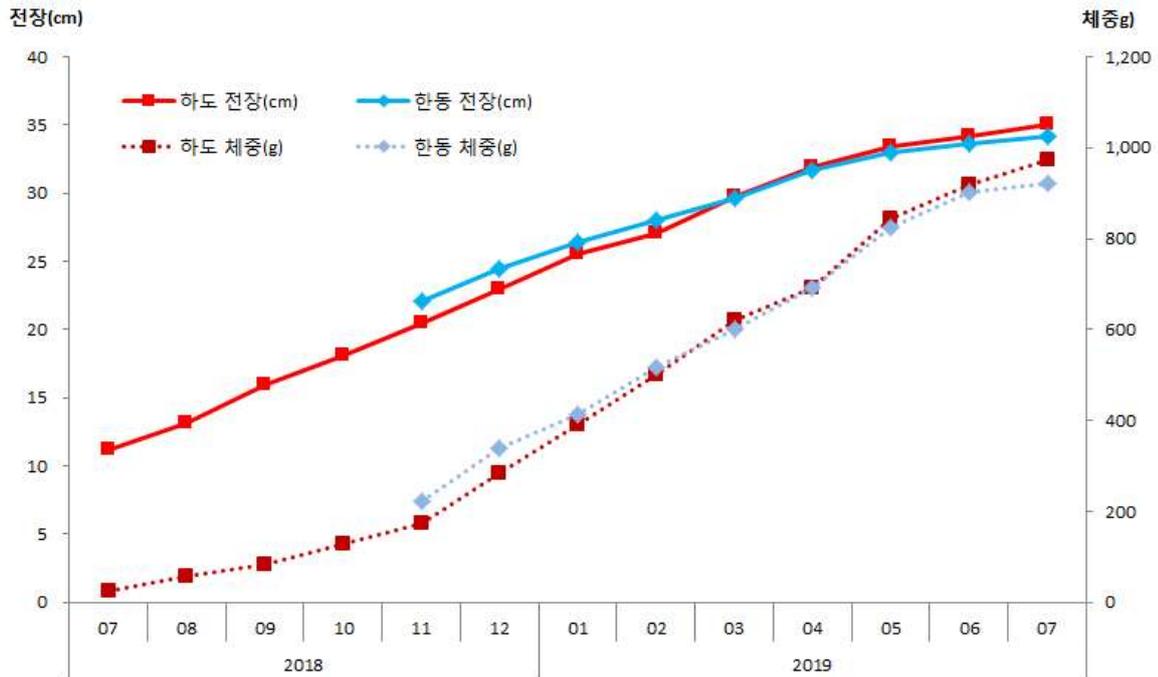


그림 21. 돌삼다보어 F1 친어후보군 성장 그래프

- 2016년에 생산되어 제주도 어가 양식장에서 사육 관리하던 개체 중 기형이 아닌 정상 개체이며 건강도와 성장률이 우수한 것으로 평가되는 450마리를 육종핵집단 후보군으로 선발하였으며, 그 외적인 형질을 계측하였음



그림 22. 돌삼다보어 F1 사육 관리 수조(좌: 해연, 우: 제주도 어가 양식장)



그림 23. 신규 선발된 육종핵집단 후보군의 암수 확인 및 개체 측정

표 9. 돌삼다보어 F1 육종핵집단 후보군으로 선발된 돌삼다보어의 계측 결과

구 분	개체 수(마리)	전장(cm)	체중(kg)	비 고
암 컷	300	38.05	1.26	
수 컷	150	32.10	0.85	
계/평균	450	36.05	1.02	

- 돌삼다보어 F1의 선발 개체들을 포함하여 (영)해연에서 2019년 10월 현재 사육 관리 중인 친어의 관리 현황을 정리하였음

표 10. 현재 사육 중인 국내의 터벗 친어 및 육종핵집단 후보군 관리 현황

(2019. 10 기준)

구 분	사육 개체(마리)	비 고
터벗 친어 세대	국 내 산	446
	프랑스산	252
	소 계	698
돌삼다보어 F1	F1-18	448
	소 계	448
계	1,116	

### 5. 육종핵집단 후보군 양성 관리 (4차년도)

- 돌삼다보어 F1세대는 기형이 아닌 정상적인 개체 중 성장이 우수하고 질병이 없는 개체를 선발 그룹화하여 집중적으로 관리되며 그룹 중 성장 및 건강도를 고려하여 친어후보군으로 선발하였음. 친어후보군이 친어로 사용할 수 있는 연령이 되면 다시 선발하여 육종핵집단으로 관리함

표 11. 현재 사육 중인 국내외 터봇 친어 및 육종핵집단 후보군 관리 현황

(2020. 10 기준)

구 분		사육개체수(마리)	비 고
터봇 친어 세대	국내산 터봇	188	
	프랑스산 터봇	74	
	소 계	262	
돌삼다보어 F1	F1(18)	394	'18 생산 / '19. 07. 모집
	F1(19)	182	'19 생산 / '20. 08. 모집
	소 계	576	
계		838	

표 12. 돌삼다보어 F1세대 친어후보군 성장

(단위 : g)

	4개월	5개월	6개월	7개월	8개월	9개월	10개월	11개월
돌삼다보어 F1세대(2019)	14	22	66	107	208	305	383	450

- 2020년 7월에 친어후보군 700여 마리를 입식하였고, 기형, 건강도 및 외적 형질을 목측 평가하여 200마리를 육종핵집단 후보군으로 선발함

표 13. 4차년도 돌삼다보어 F1 육종핵집단 후보군 외적 형질 측정 결과

구 분	개체 수(마리)	전장(cm)	체중(kg)	비 고
암 컷	150	35.45	0.96	
수 컷	50	30.19	0.56	
계/평균	200	33.32	0.80	



그림 24. 돌삼다보어 F1 육종핵집단 후보군 선발

#### 6. 육종핵집단 후보군 양성 관리 (5차년도)

- 돌삼다보어 F2세대 그룹은 2020년에 돌삼다보어 F1세대 육종핵집단 친어를 이용하여 수정란을 생산하였음
- 남부수산에서 생산된 종자 중 1만여 마리를 다시 해연에 입식하여 사육 관리하였음
- F2세대 그룹은 주기적으로 성장도 및 건강도를 조사하였음
- F2세대 그룹 중 성장이 우수한 그룹에서 기형, 건강도 및 외적 형질을 평가하여 180마리를 육종핵집단 후보군으로 선발함
- 육종핵집단 선발은 암컷 100마리와 수컷 80마리를 선발하여 전장, 체중 등 외적 형질을 측정하고 PIT chip를 이식하였으며, 꼬리지느러미 부분에서 DNA를 채취하여 선발하였음



그림 25. 터봇 친어세대 수조 및 F1 세대 친어 수조

표 14. 현재 사육 중인 국내의 터봇 친어 및 육종핵집단 후보군 관리 현황

(2021. 10 기준)

구 분		사육개체수(마리)	비 고
터봇 친어	국내산 터봇	91	
	프랑스산 터봇	22	
	소 계	113	
돌삼다보어 1세대(F1)	F1(18)	211	
	F1(19)	124	
	소 계	335	
돌삼다보어 2세대(F2)	F2(20)	178	
	소 계	178	
계		838	

표 15. 4차년도 돌삼다보어 F1세대 육종핵집단 후보군 외적 형질 계측 결과

구 분	개체 수(마리)	전장(cm)	체중(kg)	비 고
암 컷	100	44.7 ± 2.20	2.11 ± 0.33	
수 컷	80	38.1 ± 2.49	1.28 ± 0.32	
계/평균	200	41.76 ± 4.04	1.73 ± 0.53	



그림 26. 돌삼다보어 F2세대 육종핵집단 후보군 선발

- 육종핵집단으로 선별된 F2세대 집단은 경제적 육종형질에 따라 향후 돌삼다보어 F3세대 생산에 활용할 예정임
- 육종핵집단으로 선별된 F3 돌삼다보어 집단은 현재 개발하고 있는 50K SNP chip을 활용하여 유전체 육종기술을 적용할 예정임
- 유전체 육종기술의 안정적인 활용을 위해서 우선 속성장 형질을 적용하여 GWAS 분석을 통해 성장과 연관된 유전자를 확인하고, Genetic relationship matrices (GRMs)를 구성하여 gBLUP 기반으로 계산된 육종가를 적용할 예정임

### 3절. 국외 육종핵집단 구성 및 관리

#### 1. 해외 생산 기반 조성

- 돌삼다보어 양식의 수정란 또는 종자의 입식이 이루어질 양식장을 선정하기 위해 최적 환경 적합성 검토 확인 및 현지 파트너 및 입식 가능한 양어장 선정함
- 양식시설 환경 적합성 검토 항목은 물류 수송 시간 및 편리성, 양식장 규모, 양식장 시설, 양식 수온, 관리 시설, 수조 형태 및 수량 등임
- 추가적으로 펌프 시설, 수조 형태 및 수량, 유입수 여과기 시설, 배출수 시설, 접근성, 외부로부터의 안전성 등이 있음
- 접근성, 외부로부터의 안전성, 해수면으로부터의 높이, 부지 면적, 전력 확보, 해저 기질의 종류 등을 검토항목으로 설정함
- 중국 산둥성 일대의 터벗 생산자 중에서 신뢰도 및 인지도가 높고 터벗 생산량이 높은 곳을 선발하였음
- 협력 업체인 해광수산은 중국에 종자 수출 경험이 많으며 다수의 현지 양식장과 파트너십을 구축해오고 있음
- 돌삼다보어 수출을 위한 현지 기지 구축을 완료하였음(중국 현지 양식장 구축)

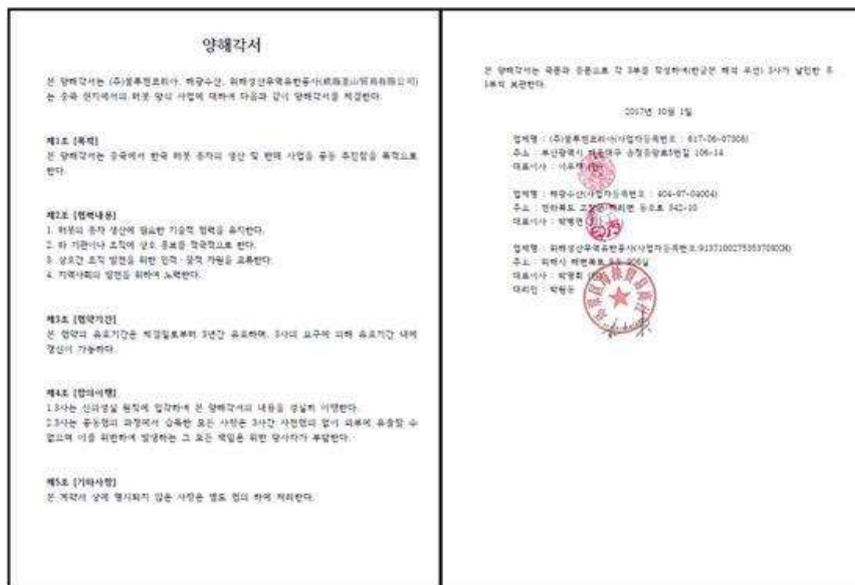


그림 27. 중국 현지 양식 사업에 대한 양해각서(MOU) 체결

- 다년간의 터벗 및 타 어종 양식 경험을 가진 해광수산, 남부수산의 현장답사 및 회의를 통한 터벗 양식의 최적 환경 적합성을 검토하여 중국 산둥성 위해에 위치한 ‘쭈앙다오린창’ 양식장 4개동 임대계약 체결
- 4개동 중 2개동 넙치품목 시험포 운영, 나머지는 참여기업의 상업용 생산시설로 사용
- 시험포 시설 2개동은 종자생산 및 중간 육성, 그리고 향후 친어 관리 및 어병 발생에 대비한 예비시설로 활용



그림 28. 중국 양식장 임대계약서

## 2. 국외 육종핵집단 구성 및 관리

- 터벗 친어 집단 중 일부를 중국 현지로 운송하여 친어 관리 시스템 및 유전형 분석을 통한 교배지침을 적용하여 수정란을 직접 생산 및 보급하고자 함
- 국내에서 생산된 종자의 수출은 고가의 수출 비용 문제로 인해 종자 생산 및 판매 단가에 절대적인 영향을 줄 수밖에 없으며, 이를 해결하기 위하여 해외 생산거점을 마련하고 현지에서 직접 종자를 생산하는 방식으로 진행하고자 함
- 중국 현지 양식장에서 생산되는 터벗 종자 중 외형적으로 우수한 개체를 선별하여 개별 관리하고, 친어집단을 구성하여 유전적 거리분석 및 속성장, 내병성 등 유전적 연구를 통해 친어집단으로 관리하였음
- 2017년 및 2018년에 생산된 종자와 2018년과 2019년에 중국 현지에서 생산된 돌삼다보어 종자 중 외적 형질이 우수한 개체 일부를 선별하여 친어후보군으로 관리하고 있음



그림 29. 중국 해외기지 돌삼다보어 친어 관리

### 3. 국외 건강종자 대량생산체계 확립

- 중국 현지 위탁업체와 협력하여 현지 수정란 생산을 통한 해외기지를 활용한 대량생산 체계 구축 및 사업화를 진행하였음
- 국외 육종핵집단의 유전자형 분석을 위한 지느러미 조직을 샘플링 작업을 수행하여 국내로 가져와 중국 현지 상황에 맞게 교배지침을 작성하여 중국 현지 생산체계를 확립함
- 중국 해외기지 일부 시설을 보강하고, 개체이력 시스템을 통한 우수한 친어후보군을 선별하여 수정란 생산을 위한 친어 성성숙 유도 및 사육 관리를 진행하여 수정란을 생산함

- 중국 현지 인력은 참여기업인 해광수산에서 다년간 넙치 및 터봇 종자 생산 경험이 있어, 터봇 종자의 생산 및 관리에 큰 문제가 없으며 추가적으로 중국 현장 관리자 및 인력을 채용하여 돌삼다보어 종자의 대량생산 체계를 확립함
- 해외기지 관리를 위해 현장을 방문하여 생산현황 점검 및 위탁연구기관들과 공조한 질병 검사, 예방책 마련 등을 통하여 안정적인 생산체계를 구축하였음



그림 30. 중국 해외기지 수정란 입식 및 관리

#### 4. 현지 종자 생산 및 우량 자치어 양성

- 현지의 발병률이 높은 질병과 부화율, 기형률 등에 대한 조사를 통해 건강한 종자를 생산하는 시스템을 구축하였음
- 현지 생산 관리직원에 대한 철저한 사전 교육과 협력체계 구축 등 양식 기반 조성하여, 정기적인 현장 직원 교육 및 현장 점검을 통한 생산 기반 확립함
- 다수의 해외 수출 경험과 현지 판매처 및 유통망을 보유한 해광수산과 국내 판매 경험과 판매망을 보유한 남부수산을 통해 수출 대상국에 대한 현지 생산기반 구축을 보다 유리하게 진행하였으며, 신속한 프로세스를 통한 건강 종자 생산이 이루어짐
- 중국 해외기지에서도 우수한 육종핵집단을 구성하고, 인근 수정란 생산 시설과 협조하여 산란수조를 세팅하여 수정란 생산을 진행하였음

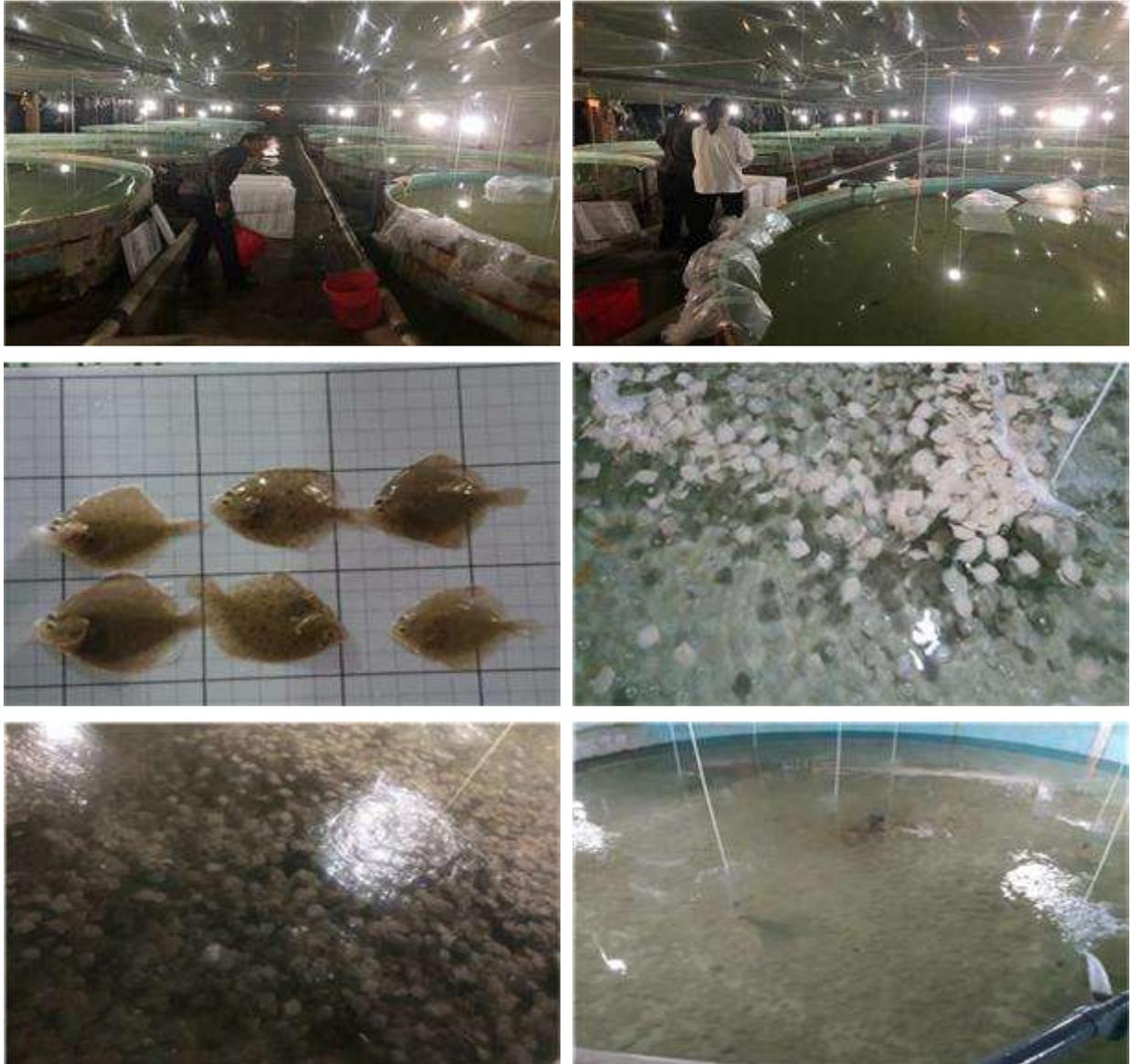


그림 31. 중국 해외기지 돌삼다보어 종자 생산 현장

- 동일한 환경조건 및 사육자가 양성하는 조건 하에서 돌삼다보어의 우수성을 입증하기 위하여 중국 수정란을 일부 입식하였으며, 종자 단계 이후 성장 과정을 보면서 돌삼다보어와의 비교 모니터링을 진행함
- 비교 결과 중국 터בות에 비해서 본 과제를 통해 개발된 돌삼다보어가 상대적으로 우수한 성장 속도를 보였음

## 4절. 안정적인 친어 관리 및 성성숙 유도 시스템 개발

### 1. 돌삼다보어 친어 관리를 위한 수질 관리

- 터בות의 사육 용수로 연중  $16.5 \pm 1.2^{\circ}\text{C}$ 로 수온이 일정한 지하 해수를 사용하고 있으며, 수정란 생산을 위한 성성숙 유도 수조에는 사육 용수의 가온 및 감온이 가능한 히트펌프((주) 일진)를 설치하여  $8 \sim 20^{\circ}\text{C}$ 까지 조절하여 터בות의 사육관리를 진행하고 있음
- 또한, 3차년도에 5마력 냉난방기 열교환기((주)뉴블루오션, BF·5000PL) 4기를 추가로 설치하여 경제적이고 안정적으로 수온을 조절하여 사육 관리를 진행하고 있음



그림 32. 터בות 성성숙 유도 수조 및 냉난방 열교환기

- 사육 용수로 사용하는 지하해수의 경우는 용존산소가 낮아( $2 \sim 5\text{ppm}$ ) 산소발생기 또는 액화 산소를 사용하여  $7 \sim 9\text{ppm}$ 을 유지하여 사육하였음
- 터בות의 안정적인 사육 관리하기 위해 사육 수질을 지속적으로 모니터링하였음. 수온, 염분, DO, pH 등 일반적인 수질 환경은 매일 측정하여 관리하고 있음
- 주기적으로 수소이온농도, 용존산소, 일반세균, 암모니아, 질소 등 수질 분석을 위해 제주대학교 생명과학기술혁신센터에 의뢰하여 주기적으로 분석하여 터בות 사육에 적합한 것으로 판단하였음
- 사육수의 화학적 성분을 검사하기 위해 동진생명연구원(경남 창원소재)에 의뢰하여 분석한 결과 카드뮴, 수은, 납, 총대장균군은 검출되지 않았으며, 화학적산소요구량(COD OH)  $0.8\text{mg/L}$ , 총질소  $0.18\text{mg/L}$ , 총인  $0.050\text{mg/L}$  터בות 사육에 적합한 것으로 판단하였음

표 16. 터벗을 사육하는 공급 원수와 수조 내 사육수의 수질 분석 결과

측정 항목	공급 원수	사육수
수온	16.5 ± 1.0°C	16.5 ± 1.2°C
수소이온농도(pH)	7.7 ± 0.17	7.7 ± 0.10
용존산소(DO)	8.5 ± 0.52 ppm	8.4 ± 1.51 ppm
일반세균	9.4 ± 2.26 CFU/mL	18.4 ± 13.11 CFU/mL
암모니아성 질소(NH3 · N)	0.0 ± 0.07	0.07 ± 0.06
아질산성 질소(NO2 · N)	N.D.	N.D.
질산성 질소(NO3 · N)	0.0 ± 0.05	0.0 ± 0.08

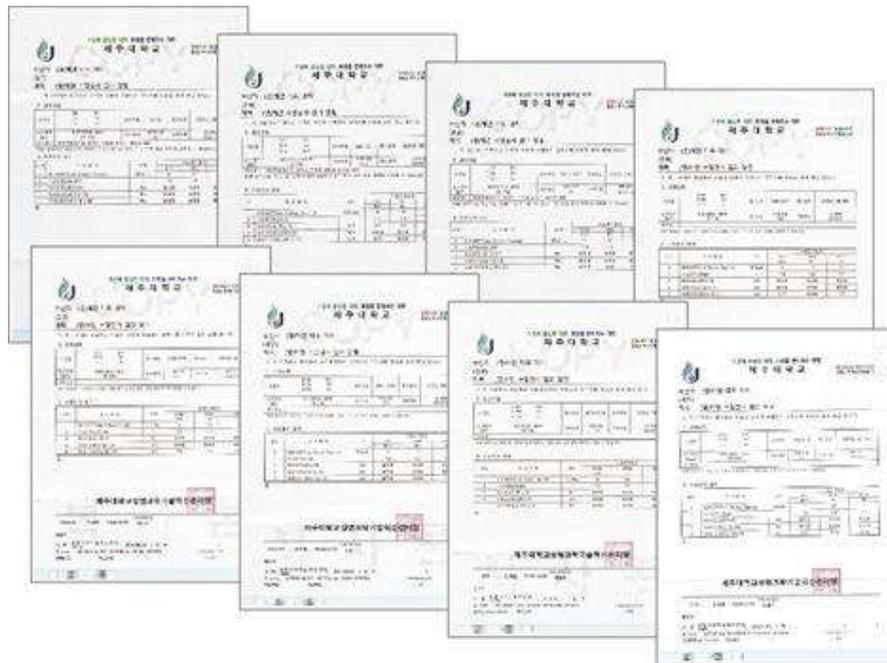


그림 33. 들삼다보어 사육수 및 배출수 수질 분석

- 터벗 사육 현장에서 수온, DO, pH 등을 측정하고 있으나, 일반세균수, 질산성 산소 등 수질 분석을 통한 터벗 사육수의 적합성 및 화학적 성분을 검사하여 수질 적합성을 판단하기 위해 매년 제주대학교 생명과학기술혁신센터 및 동진생명연구원에 의뢰하여 주기적으로 적합성 및 화학 분석을 진행하였으며, 분석 결과지를 통해 터벗 사육에 적합한 것으로 판단함
- 터벗 친어 사료로는 MP 사료(고등어, 전갱이 등 혼합사육)를 공급하고 있으며, 기 선발된 친어후보군 그룹은 종자에서 성어까지 EP 사료로 사육 관리 중에 있으며, 친어 그룹으로 선발한 이후에도 EP사료로 사육 관리하였음

## 2. 수온/광주기 조절을 통한 성성숙 유도 및 연중생산에 의한 대량생산 체계 구축

### 가. 1차년도 수온/광주기 조절을 통한 성성숙 유도

- 터בות은 저수온성 어류로서, 국내에서는 일반적으로 제주도의 지하해수(연중 수온  $17\pm 1^{\circ}\text{C}$ )를 이용하여야만 사육할 수 있는 어종임. 선행연구에서는 해당 양식어장 조건에서 자연적인 성성숙 유도로 수정란 생산을 시도하였으나 암컷의 난은 형성되는 반면, 수컷의 정자를 얻는데 실패하여 생산할 수 없었음
- 이후 외인성 호르몬의 사용과 인위적 수온/광주기의 조절로 수정란의 생산 및 성성숙도를 조사한 바가 있으나 좋은 품질(난질, 수정률과 부화율 등으로 평가)의 수정란을 얻기 위한 조건은 확립되지 않음
- 난질, 수정률, 부화율, 산란 후 친어의 건강회복 방법에 대해 개선점을 찾고자 환경제어를 달리 적용하여 성성숙 유도를 하기 위해 친어 대상으로 실험 그룹을 구성하였음
- 지속적으로 수온/광주기의 파라미터를 변경하여 연구한 결과 터בות의 생산에 적합한 환경제어 조건을 확인하였음

표 17. 성성숙 유도를 위한 환경제어 조건

	Experimental Group	Environmental condition	
		W.T. ( $^{\circ}\text{C}$ )	Day length
1차년도	Exp. 1	13.0	(12L:12D)→(16L:8D)
	Exp. 2	17.0→8.0(20일간)→13.0	(12L:12D)→(16L:8D)
2차년도	Exp. 1	17.0→8.0(25일간)→13.0	(8L:16D)→(16L:8D)
	Exp. 2	17.0→8.0(35일간)→13.0	(8L:16D)→(16L:8D)
3차년도	Exp. 1	17.0→8.0(30일간)→13.0	(8L:16D)→(14.5L:9.5D)→(14L:10D)
	Exp. 2	17.0→8.0(45일간)→13.0	(8L:16D)→(14.5L:9.5D)→(14L:10D)
	Exp. 3	17.0→13.0	(10L:14D)→(14L:10D)

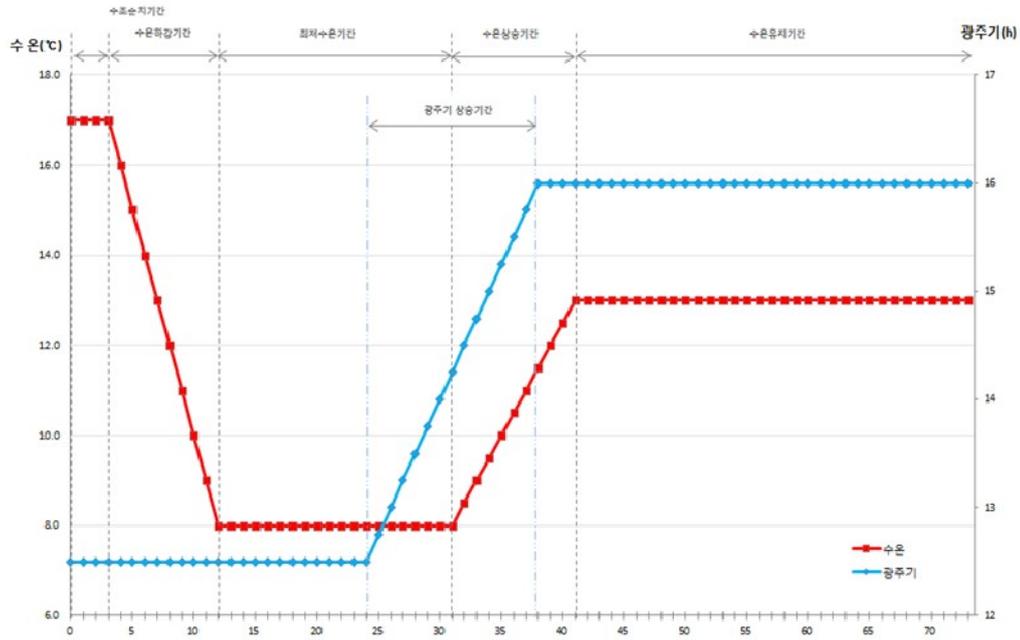


그림 34. 실험구 환경제어(수온, 광주기) 스케줄

- 외형상 배가 부른 암컷 또는 강한 빛을 이용하여 생식소가 발달한 것으로 판단되는 개체에 외인성 호르몬을 투여하여 체란 및 체정을 유도하였음
- 호르몬 주사 후 약 48시간 후부터 1~3일 간격으로 10여 차례에 걸쳐 수정란을 생산하였으며, 산란 유도 호르몬은 HCG, GnRH, LHRH 등을 사용하였으며 사용량은 개체에 따라 달리 적용함
- 1차년도 분석 결과 Exp. 2가 Exp. 1보다 산란에 참여하는 개체수도 적고, 총 산란양도 비례하여 약 67% 수준으로 줄어들었음

표 18. 1차년도 인위적인 성성숙 실험구별 산란 참여 개체 비율

구 분	Exp. 1		Exp. 2		비 고
	마릿수(우)	비율(%)	마릿수(우)	비율(%)	
수용 개체	70	100	70	100	
외형적 성성숙 개체	36	51.4	27	38.6	
산란 참여 개체	33	47.1	25	35.7	
산란 참여 누적 개체	118	168.6	92	131.4	
개체당 산란횟수	3.6회		3.7회		

### 나. 2차년도 수온/광주기 조절을 통한 성성숙 유도

- 2차년도 결과 성성숙 유도에 의해 얻어진 총 부상란의 양은 총 생산량 26,300cc의 43.5%인 11,460cc였음. Exp. 2의 경우에 채란한 개체수가 작은데 반해 생산량 자체는 28.7%가 많아 Exp. 1에 비해 개체당 40.6% 더 많은 알을 생산함으로써 산업적으로 의미를 가진다 판단됨

표 19. 2차년도 인위적인 성성숙 실험구별 산란 참여 개체 비율

구 분	Exp. 1		Exp. 2		비 고
	마릿수(우)	비율(%)	마릿수(우)	비율(%)	
수용 개체	70	100	70	100	
외형적 성성숙 개체	27	38.6	24	34.3	
산란 참여 개체	26	37.1	23	32.9	
산란 참여 누적 개체	96	137.1	90	128.6	
개체당 산란 횟수	3.7회		3.9회		
누적 채란량	11,500 cc		14,800 cc		

### 다. 3차년도 수온/광주기 조절을 통한 성성숙 유도

- 3차년도 결과 성성숙 유도에 의해 얻어진 총 부상란의 양은 총 생산량 73,771cc의 53.75%인 45,940cc였음. 저수온 8℃ 수온 구간을 거쳐 성성숙이 이루어진 Exp. 1, Exp. 2에서는 이전 연구에서 보다 외형적 성성숙이 일어나는 개체비율은 다소 늘었으나, 실제로 산란에 참여한 개체는 줄었음. 개체당 산란 횟수는 이전 연구와 비슷하였음(표 58). Exp. 3의 경우 Exp. 1, Exp. 2보다 많은 개체를 성성숙 유도하여 성성숙한 개체수, 산란 참여 개체수는 늘었으나 그 비율에서는 낮게 나왔음

표 20. 3차년도 인위적인 성성숙 실험구별 채란 참여 개체 비율

구 분	Exp. 3·1		Exp. 3·2		Exp. 3·3		비 고
	미수(우)	비율(%)	미수(우)	비율(%)	미수(우)	비율(%)	
수용 개체	70	100	70	100	100		
외형적 성성숙 개체	26	37.1	30	42.9	37	37.0	
채란 참여 개체	20	28.6	24	34.3	29	29.0	
채란 횟수	100회		118회		139회		
개체당 채란 횟수	3.8회		3.9회		3.6회		
누적 채란량	23,160 cc		23,710 cc		26,901cc		

#### 라. 4차년도 수온/광주기 조절을 통한 성성숙 유도

- 4차년도에는 같은 환경제어 조건에서 성성숙 유도하였을 때, 친어세대(Exp. 1)와 들삼다보어 F1 친어 그룹(Exp. 2)간에 수정란 생산량 및 난질을 조사하였음

표 21. 인위적인 성성숙 유도를 위한 환경제어 조건

	Experimental Group	Environmental condition	
		W.T. (°C)	Day length
4차년도	Exp. 1	17.0→8.0(30일간)→13.0	(13L:11D)→(8L:16D)→(16L:8D)
	Exp. 2		

- 암컷의 성 성숙 여부는 외형적으로 외형상 배가 불러온 암컷을 목측으로 판별하며 복부 광 투과법으로 성숙 정도를 판별하였으며, 성성숙한 암컷 개체를 선별하여 외인성 호르몬 Ovaplant(Syndel Co., Ltd.)를 친어의 체중에 따라 125 $\mu$ g, 250 $\mu$ g를 전용 주사기(Ralgun Implanter)로 근육 내에 주입하였음. 외인성 호르몬 주사 후 약 24 ~ 48시간 후부터 1 ~ 3일 간격으로 4 ~ 5차례에 걸쳐 수정란을 생산하였음
- Exp. 1은 친어세대로 고령인 암컷으로 정상적으로 성성숙이 유도되지 않았으며 수정란 생산량이 적고 난질이 좋지 않아 정상적으로 수정란을 생산하지 못함. Exp. 2 실험구에서는 표 22와 같이 성성숙이 유도되어 수정란을 생산하였음

표 22. 4차년도 Exp. 2 실험구 채란 참여 개체 비율

구 분	마리수(우)	비율(%)	비고
수용 개체	120	100	
외형적 성성숙 개체	47	39.2	
채란 참여 개체	44	36.7	
채란 횟수	40회		
개체당 채란 횟수	4.3회		
누적 채란량	54,150cc		

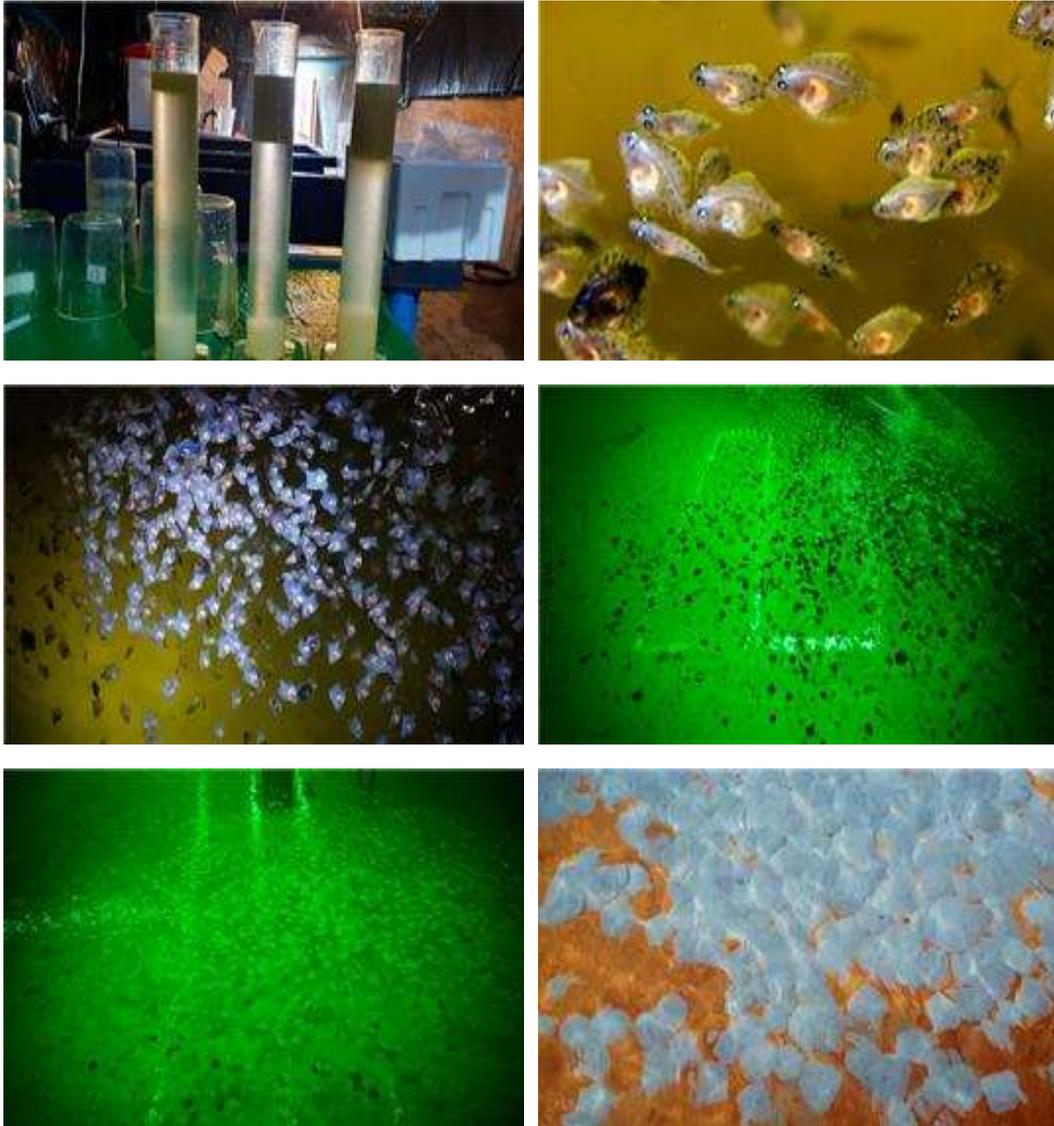


그림 35. 돌삼다보어 F2세대 종자 생산

#### 마. 5차년도 수온/광주기 조절을 통한 성성숙 유도

##### • 1차 F1세대 친어(I) 성성숙 유도

- F1세대 친어 그룹 중 유전적 다양성을 고려하여 산란에 참여하지 않았던 개체 중 성장도와 건강도를 목측 판별하여 전년도 8월부터 성성숙을 유도함
- F1 세대 육종핵집단 암컷(2~3kg) 180마리, 수컷(1~2kg) 180마리를 입식함
- 성성숙 유도 수조에 수용 당시 자연 광주기가 13.5L : 10.5D 상태로 순치 7일 후부터 하루에 20분씩 light 주기를 8L : 16D 주기까지 줄인 후 30일간을 유지하였음. 그 후 하루에 20분씩 14L : 10D 주기까지 light를 올려 주고 그대로 광주기를 유지하였음
- 수온 변화는 수조에 입식한 후 10일간 안정화와 순치를 한 후 기본 사육 수온 17℃에서 12℃까지 하루에 1℃씩 내리고, 12℃에서 8℃까지 하루에 0.5℃씩 내렸음. 최저 수온인 8℃에서 40일간 유지하였다가 4일마다 1℃씩 13℃까지 서서히 올려 주었고, 그 후에는 13 ~ 14℃를 유지하며 생식소가 성숙하기를 기다렸음

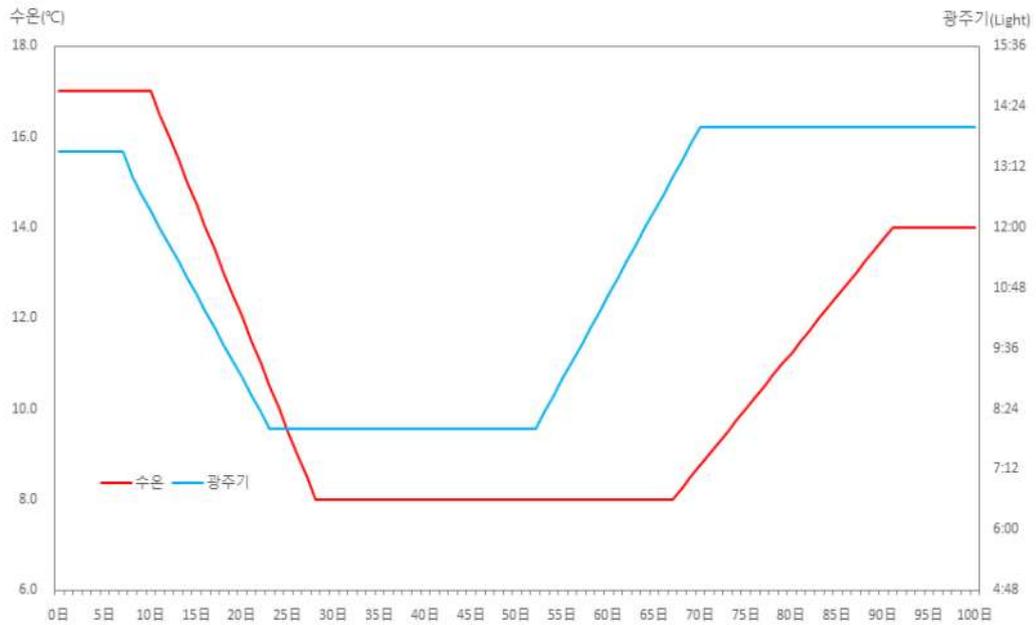


그림 36. 5차년도 1차 성성숙 유도 환경제어 스케줄

• 2차 F0세대 친어(I) 성성숙 유도

- 1차 F1 친어(I) 성성숙 유도 육종핵집단 그룹이 성성숙이 늦어지면서 5차년도 1분기 들삼다보어 종자로 생산할 수 있는 시기가 어려워지면서 차선택으로 산란경험이 있는 F0 친어 중 건강도를 목측 판별하여 12월 말부터 성성숙을 유도함
- 성성숙 수조에 암컷(4~5kg) 30마리, 수컷(2~4kg) 30마리를 수용함
- 조기 성성숙을 유도하기 위해 환경제어 조건을 1차 그룹에 비해 빠르게 제어하였음. 수용 당시 자연 광주기가 10L : 14D 상태를 기준으로 순치 5일 후부터 하루메 30분씩 light 주기를 8L : 6D 주기까지 줄인 후 15일간을 유지하였음. 그 후 하루에 20분씩 16L : 8D 주기까지 light를 올려 주고 그대로 광주기를 유지하였음
- 수온 변화는 수조에 입식한 후 10일간 안정화와 순치를 한 후 기본 사육 수온 17°C 에서 12°C 까지 하루에 1°C 씩 내려 8°C 까지 내렸으며 최저 수온(8°C)에서 20일간 유지하였다가 3일마다 1°C 씩 13°C 까지 서서히 올려 주었고, 그 후에는 13°C 를 유지하였음
- 4월부터 수정란을 생산할 수 있을 것이라 기대하였으나, 친어 그룹이 고령인 관계로 성성숙 유도기간에 자주 폐사체가 나왔으며 결국 성성숙 개체가 적게 나왔음

• 3차 F1세대 친어(II) 성성숙 유도

- F1 친어(I) 그룹과 F0 친어 그룹이 성성숙 유도가 늦어지고, 수정란 생산량이 적어 차선택으로 F1 친어후보군 중 건강이 양호한 개체를 선별하여 2월 중순부터 성성숙을 유도함
- F1 친어(II)는 암수(1~3kg) 180마리를 유도하고 있음
- 성성숙 유도 조건은 2차 육종핵집단 그룹의 성성숙 유도 조건에 준하여 수온과 광주기를 제어하였음

- 5월이후 성성숙이 되어 수정란을 생산할 수 있을 것이라 기대하였으나 잦은 질병 발생으로 폐사체가 나왔고 성성숙한 친어에서도 건강한 수정란을 생산할 수 없었음

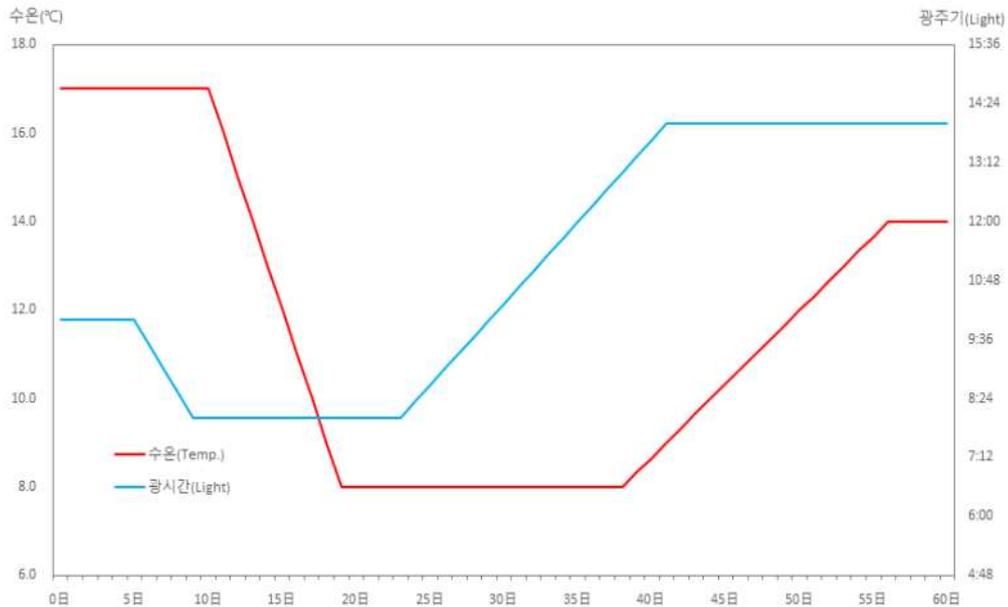


그림 37. 5차년도 2, 3차 성성숙 유도를 위한 환경제어 스케줄

#### • 4차 F1 및 F2세대 육종핵집단 친어 성성숙 유도

- 5차년도 핵심 목표인 F3세대 돌삼다보어 생산을 위해서 F2 세대 육종핵집단 그룹을 활용하여 성성숙을 유도함
- 5차년도 하반기 터벗 성성숙 유도는 2그룹(F1 친어 그룹, F2 친어 그룹)을 유도함
- F1 친어 그룹은 암수(1~3kg) 120마리, F2 친어 그룹은 암수(0.8~2kg) 180마리를 2 수조에 수용하여 성성숙을 유도함
- 성성숙을 위한 환경제어는 1차 육종핵집단 유도 과정에 준하여 실시하였음
- 14호 태풍 ‘찬훈’으로 인한 히트펌프 고장과 추석으로 A/S가 늦어져 저수온 시기에 일정하게 유지가 되지 않고 수온이 변동이 일어나 안정적인 관리가 어렵다. 친어 어체에 질병 발생이나 건강상에 큰 문제는 발생하지 않았으나, 먹이섭이가 떨어지는 등 피해를 받은 상태로 성성숙 유도에 어떤 영향이 있을지는 아직 모른 상태임
- 현재 수온 조절과 건강 상태는 양호하여 정상적으로 유도될 경우 12월 말부터 수정란이 생산될 것으로 기대하고 있음

#### • 난질 개선을 위한 급이 및 성성숙 조건 평가

- 3차 육종핵집단 성성숙 유도 그룹에서 난질 개선을 위한 사료 조건을 조사함
- 사료 조건에 따른 난질 개선 실험은 2 그룹으로 종자단계에서부터 배합사료(Extruded Pellet, EP)만으로 사육 관리한 그룹과 종자단계 이후 준성어에서 성어단계까지 생사료(Moisture Pellet, MP)로 공급한 그룹임
- 그러나 모든 그룹에서 성성숙 유도과정에 따른 수온과 광주기의 급격한 환경변화와 이로 인한 잦은 질병으로 항생제 경구 및 주사 등 치료가 이루어지면서 어류질병과 스트레스로 인한 폐사체가 많이 나왔음

- 친어들이 수정란 생산기간에 성성숙한 개체가 적었고, 동시간에 성성숙하지 않아 수정란 대량생산을 하지 못하였으며, 생산된 수정란에서도 양질의 수정란 양이 적어 난질을 평가할 수 없었음

• **돌삼다보어 종자 생산 매뉴얼 보완**

- 5차년도에는 돌삼다보어 종자 생산 매뉴얼 중 먹이생물 배양 방법 및 유의사항 등의 부분을 보완하여 업데이트하였음

- 어류 종자 생산 단계에서의 먹이생물은 어류의 영양을 공급하는 유일한 부분으로 돌삼다보어 종자의 영양, 성장, 생존, 질병 등에 직·간접적으로 영향을 줌

- 건강하고 양질의 먹이생물을 배양하기 위해 필요한 시설, 장비, 배양조건 및 배양방법 등에 대해 매뉴얼을 작성하였음

## 5절. 국내 수정란 생산 및 분양 실적

### 1. 국내 터봇 수정란 생산 및 분양 실적

- 1차년도 생산된 터봇의 수정란은 자체적으로 해연에서 사육 및 연구용으로 활용함과 더불어 제1세부 참여기업으로 무상분양의 형태로 공여되었음. 남부수산에는 3배체 수정란 900cc를 포함 총 3,200cc가 공급되었고, 해광수산은 2배체 일반 수정란 2,800cc를 공급하였음

표 23. 1차년도 터봇 수정란 분양 및 판매실적

구 분	업 체 명	납품일자	수정란량(cc)	비고
무상분양	남부수산	17.06.05	600	
		17.06.13	500	
		17.08.10	1,200	
		17.08.19	600	3배체
		17.08.22	300	3배체
		소 계	3,200	
	해광수산	17.08.26	1,000	
		17.09.16	1,800	
		소 계	2,800	
		소 계	6,000	
국내판매	신산수산	17.08.10	600	
	대형수산	17.08.11	600	
	무진수산	17.09.09	300	
	소 계	1,500		
	합 계	7,500		

- 생산된 터봇 수정란의 일부는 제주지역에서 터봇 종자 생산을 희망하는 3개소(신산수산, 대형수산, 무진수산)의 업체에 각각 분양되어 국내 판매 금액으로 집계하였음
- 2차년도 생산된 돌삼다보어의 수정란은 자체적으로 1세부 참여기업인 (주)블루젠코리아를 포함하여 참여기업에 무상분양으로 공급하였음

표 24. 2차년도 돌삼다보어 수정란 분양실적

구 분	업 체 명	납품일자	수정란량(cc)	비고
무상분양	남부수산	2018.01.29	600	
		2018.02.08	460	
		2018.02.24	600	
		2018.02.26	300	
		2018.03.15	750	
		2018.03.19	350	
		소계	3,060	
	해광수산	2018.03.12	600	
		소 계	2,800	
	어업회사법인(주) 블루젠	2018.05.17	1,000	
		2018.08.09	1,500	
		2018.09.04	1,500	
		소 계	4,000	
자체 사육 및 연구용			3,800	
합 계			11,460	

- 또한, 2차년도에 생산한 돌삼다보어 수정란은 자체 사육하여 돌삼다보어 종자를 갈릴리수산(서귀포시 대정읍 소재) 약 14,000마리 판매하였고, 해암수산에 약 1,250마리를 판매하여 국내 매출로 집계하였음



그림 38. 돌삼다보어 종자 생산

전자계산서		20180801-1000000-30141325	
발주 번호	616-81-62606	공시일장 번호	616-92-62284
발주 명칭	영어초급법연 태연	공시일장 명칭	영어초급법연 태연
발주 사실상 거래 일자	제주특별자치도 제주시 구좌읍 해맞이로연호 902-2	공시일장 사실상 거래 일자	제주특별자치도 서귀포시 대정읍 무릉리 280-2
거래 내역	이업 종회 중효생산업	거래 내역	이업 종회 중효생산업
이메일	loveslony017@nate.com	이메일	loveslony017@nate.com
작성일자	2018/08/01	공급가액	14,000,000
통 일 비고	08 01	수량	단가
합계금액	14,000,000	현금	수표
		이름	최상미주금
		이 금액을 (영수) 함	

전자계산서		20180920-1000000-48013742	
발주 번호	616-81-62506	공시일장 번호	616-97-63964
발주 명칭	영어초급법연 태연	공시일장 명칭	영어초급법연 태연
발주 사실상 거래 일자	제주특별자치도 제주시 구좌읍 해맞이로연호 902-2	공시일장 사실상 거래 일자	제주특별자치도 서귀포시 대정읍 무릉리 280-2
거래 내역	이업 종회 중효생산업	거래 내역	이업 종회 중효생산업
이메일	loveslony017@nate.com	이메일	loveslony017@nate.com
작성일자	2018/09/20	공급가액	2,000,000
통 일 비고	09 20	수량	단가
합계금액	2,000,000	현금	수표
		이름	최상미주금
		이 금액을 (영수) 함	

그림 39. 돌삼다보어 종자 판매 증빙 자료

- 3차년도 생산된 2배체 수정란은 자체적으로 해연에서 사육 및 연구용으로 활용함과 더불어 1세부 연구기관과 1세부 참여기업들(남부수산, 신평해산양식)에 무상분양의 형태로 공급되었음



그림 40. 돌삼다보어 F1세대 수정란 생산

표 25. 3차년도 돌삼다보어 F1세대 수정란 분양실적

구 분	업 체	운송일자	운송량(cc)	비고
		19.04.25	3,200	
	어업회사법인(주) 블루젠	19.05.09	4,000	
		19.05.30	2,900	
		소 계	10,100	
무상분양	남부수산	19.01.06	900	
		19.01.08	400	
		19.01.10	150	
		19.02.20	300	
		19.02.21	600	
		19.03.30	130	
		19.04.11	150	
		소 계	2,630	
	신풍해산양식	19.04.06	500	
		소 계	500	
자체 연구용 및 사육		18.12.03	200	
		18.12.20	400	
		18.12.23	500	
		18.12.26	400	
		19.02.26	200	
		19.03.02	300	
		19.03.05	450	
		19.03.13	350	
		19.03.14	350	
		소 계	3,150	
합 계			16,380	

- 2019년 9월 3일에 터봇 종자를 전장 15cm이상 생산하여 재영수산(제주시 구좌읍 소재) 4,000여 마리, 흥진수산(제주시 구좌읍 소재) 4,000여 마리 판매하여 국내 매출로 집계함

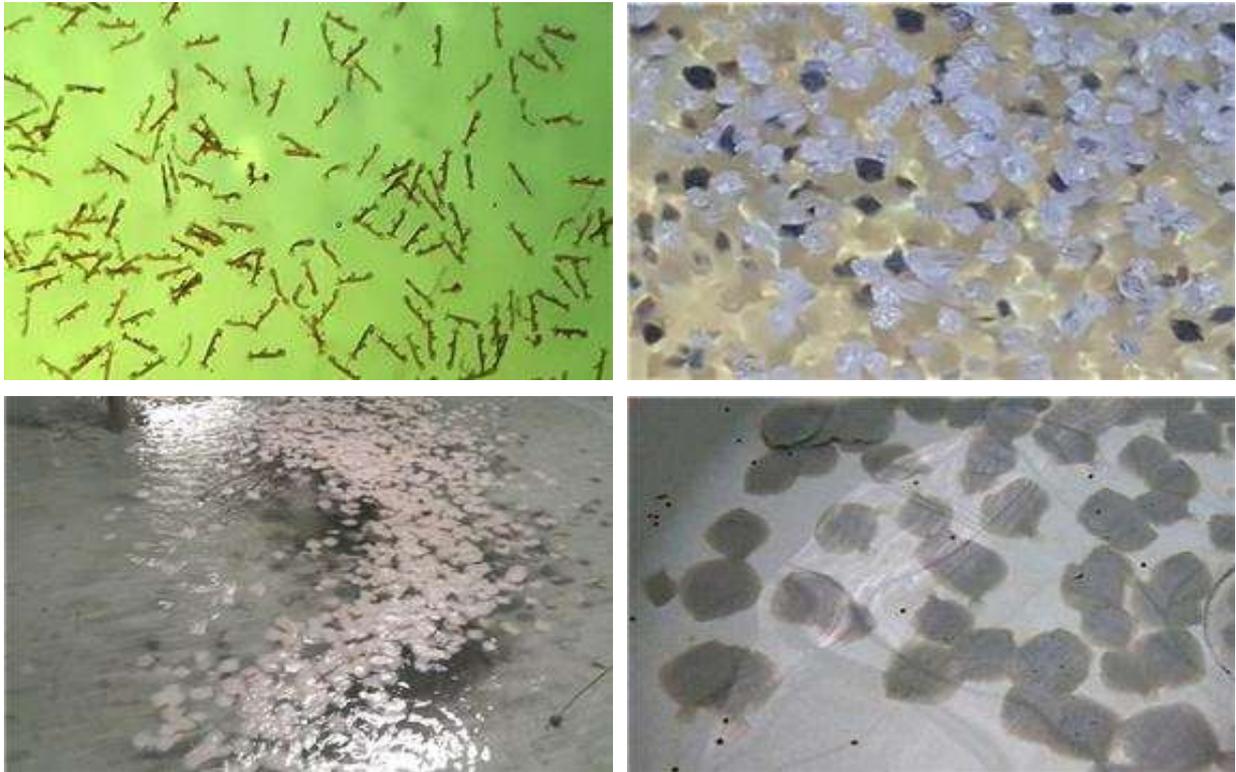


그림 41. 돌삼다보어 F1세대 종자 생산

- 4차년도에 생산된 돌삼다보어 F1세대의 수정란을 일부 자체 F2세대 종자 연구용으로 이용하고 참여기업에 무상분양하였고, 생산된 돌삼다보어 F2세대 수정란을 참여기업인 남부수산, 신흥해산양식에 분양하여 종자를 생산하였음
- 2세부 연구기관인 해연에서 3,050cc의 수정란을 종자로 사육하면서 부화율, 생존율, 성장률 등 종자 연구에 사용하였고 3만여 마리의 종자를 생산하여 그 중 일부 2만 마리를 어업회사법인 무진(주)에 판매하였고, 나머지 1만여 마리를 자체 사육하고 있음
- 남부수산에서는 16.3만 마리 종자를 생산하여 5월과 7월에 제주어가 4곳에 판매하였으며, 1만 마리를 해연에 다시 입식시켜 2세대 종자를 연구하고 있으며, 신흥해산양식에서는 5.3만 마리 종자를 생산하여 5월에 제주어가 2곳으로 판매하였음

표 26. 4차년도 돌삼다보어 F1, F2세대 수정란 보급 및 종자 판매 현황

업체	수정란 분양		종자 국내 판매 및 분양			비고
	일자	운송량(cc)	일자	마리수	업체	
남부수산	20.01.07	450				
	20.01.09	1,000				
	20.01.23	800	5월15일	8.5만	대머들, 행원, 해연	58.0천만 원
	20.01.24	550	5월29일			
	20.04.14	750	7월16일	7.8만	해맑음, 오성, 행원	
	20.06.07	1,000				
	20.06.09	500				
	소 계	5,050		16.3만		
신평해산양식	20.01.07	450				
	20.01.14	400	5월11일 5월09일	5.3만	우성, 신양	42.4천만 원
	20.02.04	400				
	소 계	1,250		5.3만		
자체 연구 및 사육	19.12.26	300	8월06일	2.0만	무진	3.3천만 원
	20.01.04	300				
	20.01.13	200				
	20.01.17	150				
	20.04.13	300				
	20.06.05	1,200				
	20.06.19	350				
	20.06.24	250				
	소 계	3,050				
합 계	9,350		23.6만			

표 27. 5차년도 돌삼다보어 F1세대 육종핵집단 수정란 생산현황

	친어마리수 (암/수)	채란 횟수	생산량 (cc)	부상량 (cc)	부상률 (%)	수정률 (%)	비고
1차	7/6	3	1,550	650	35	21	
2차	6/6	4	3,735	1,350	36	44	
3차	9/9	2	2,200	600	27	18	
4차	9/9	2	1,100	200	18	25	
계	31/30	11	8,585	2,800			

- 5차년도 생산된 수정란 중 부상률이 우수하여 초기에 부상한 수정란을 1세부 참여기업인 남부수산에 1월 28일 400cc, 2월 6일 100cc 분양함
- 남부수산으로 분양한 수정란은 정상적으로 부화하여 건강하게 종자를 생산하고 있었으나 3월 이후 계속적인 폐사로 2021년 3월 12일 생산성이 없어진 것으로 판단하여 폐기하였음
- 돌삼다보어 F2세대 종자를 중간 육성하는 단계에서 사육밀도 등 사육 여건을 고려하여 3,500여 마리를 국내 양식어가에 판매하였으며, 1kg 이상의 성어 또한 국내 판매를 진행하였음
- F2세대에서 기형, 성장도, 건강도를 기준으로 친어후보군 및 마린씨드에 분양할 그룹 500여 마리를 선별하고, 나머지 그룹을 국내 유통업체(2곳) 판매하여 총 3회, 76.8백 원의 실적을 기록하였음



그림 42. 돌삼다보어 F2세대 성어 판매

- 돌삼다보어 F2세대 종자를 중간 육성하는 단계에서 사육밀도 등 사육 여건을 고려하여 3,500여 마리를 국내 양식어가에 판매하였음

그림 43. 2021년 돌삼다보어 종자 판매 증빙 자료

- 돌삼다보어 F2세대가 1kg이상 성어로 성장함에 따라 해외 수출을 제주광어(주)와 시도하였으나 코로나로 인해 수출이 이루어지지 않아 국내 판매하였음
- F2세대에서 기형, 성장도, 건강도를 기준으로 친어후보군 및 마린씨드에 분양할 그룹 500여 마리를 선별하고, 나머지 그룹을 국내 유통업체(2곳) 판매하여 총 3회, 76.8백 원의 실적을 기록하였음

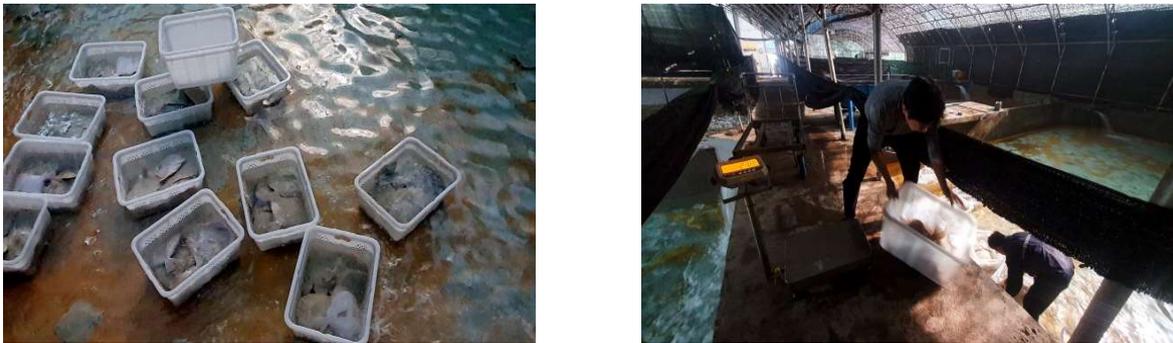


그림 44. 2021년 돌삼다보어 성어 판매

그림 45. 돌삼다보어 성어 국내 매출 자료

## 6절. 국내외 돌삼다보어 종자 판매 및 수출 실적

### 1. 국내 종자 판매 전략 및 실적

- 국내 터벗 양식업체들과의 협력체계를 갖추고, 품종설명회를 통하여 돌삼다보어의 우수성을 홍보하고 양식업체들의 의견을 수렴하여 종자 필요시기에 맞춘 생산 및 판매가 이루어질 수 있도록 유도하고, 점차적으로 생산자 입장에 맞춘 판매 전략을 갖추고자 함
- 2차년도에는 2세부 연구기관인 (영)해연에서 생산된 돌삼다보어 수정란을 참여기업으로 2018년 1월부터 3월까지 7회 약 3,660cc를 입식하였으나, 수질, 초기사료 급여, 이동 간스트레스 등의 사유로 몇 차례 생산을 하지 못하였으며 최종적으로 약 9만 마리를 생산하여 제주도 3개 양식장으로 판매하였음
- 또한, 해연에서 차세대 양성을 위하여 자체 생산한 개체 중 일부를 판매하여 국내 판매 성과를 일부 달성하였음

표 28. 2018년 국내 돌삼다보어 종자 판매 내역

번호	판매업체	판매마리수	입금일자	입금금액(원)	비고
1	해맑음수산	26,000	2018.06.22	22,000,000	
2	우성수산	23,000	2018.07.09	20,000,000	
	소계	49,000		42,000,000	



그림 46. 2차년도 국내 돌삼다보어 종자 판매 계약서



그림 47. 국내 돌삼다보어 종자생산 및 판매

- 3차년도에는 돌삼다보어의 안정적인 생산을 위하여 참여기업을 이원화(남부수산 및 신흥해산양식)하여 국내 보급을 위한 종자생산을 진행하였음
- 2세부 연구기관인 (영)해연에서 생산된 돌삼다보어(F1세대) 수정란을 참여기업으로 보급하였고, 상반기에 약 2만 마리를 생산하여 판매를 진행하였음

표 29. 2019년 국내 돌삼다보어 종자 판매 내역

번호	판매업체	판매마리수	입금일자	입금금액(원)	비고
1	중앙수산	16,000	2019.08.27	20,800,000	
	소계	16,000		20,800,000	



그림 48. 국내 돌삼다보어 종자 판매 계약서

- 4차년도에는 2세부 연구기관인 (영)해연에서 생산된 돌삼다보어 수정란을 참여기업으로 무상 보급하였고, 상반기에 약 21.6만 마리를 생산하여 1만 마리는 후대 관리를 위하여 2세부프로젝트 연구기관으로 입식하였으며, 나머지 물량은 판매를 진행하여 약 162.8백만원의 판매실적을 달성하였음
- 중국 터븃 종자 수입은 2017년 6,000kg에서 2018년 5,285kg, 2019년 4,170kg, 2020년 9월 30일 기준 약 1,925.5kg 수입이 이루어지고 있음을 확인할 수 있으며, 이는 중국 터븃보다 한국 터븃(돌삼다보어)이 우수하다는 양식어가들의 평가를 입증하는 것으로 판단됨(출처:국립수산물품질관리원 수입검역통계)
- 지속적인 돌삼다보어 종자 생산을 통해 국내 자급률 100% 달성 및 추가적인 공급 달성을 이루고자 함

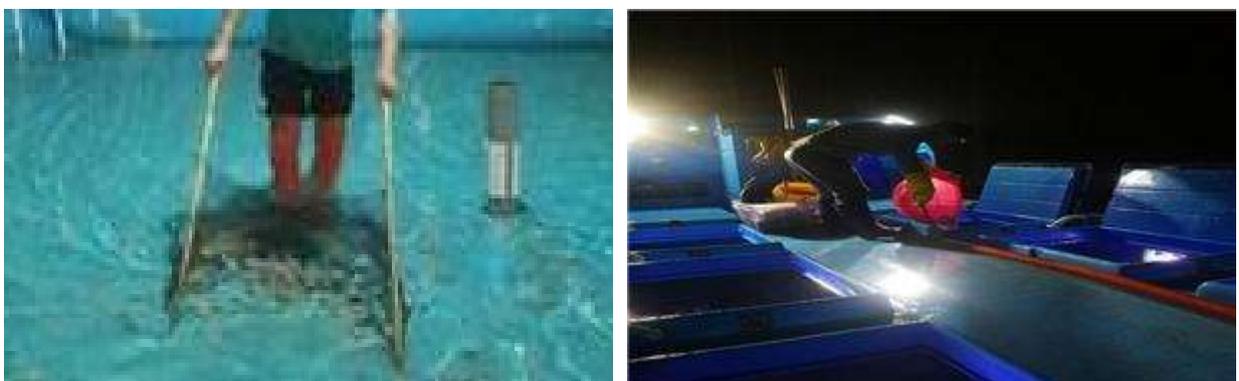


그림 49. 2019년 국내 돌삼다보어 종자 판매 현장

표 30. 2019년 국내 돌삼다보어(2세대) 종자 판매 내역

번호	판매업체	판매마리수	입금일자	입금금액(원)	비고
1	우성수산	30,000	2020.05.11	24,000,000	
2	신양수산	23,000	2020.05.19	18,400,000	
3	대머들수산	60,000	2020.04.09 2020.05.16 2020.05.27	48,000,000	
4	행원수산	15,000	2020.06.02	10,000,000	
5	해맑음수산	25,000	2020.07.17	20,000,000	
6	행원수산	28,000	2020.07.17	22,400,000	
7	태양수산	25,000	2020.07.21	20,000,000	
	소계	206,000		162,800,000	



그림 50. 2020년 국내 돌삼다보어 종자 판매 계약서

• 국내 생산된 돌삼다보어 성어의 국외 수출

- 터봇 성어는 국내 수산 시장으로 대부분 유통되지만, 일부 물량은 미국 및 캐나다로 수출되고 있으며, 이러한 성어 수출은 터봇의 추가적인 성과라고 판단할 수 있음
- 제주광어주식회사를 통해서 지속적으로 성어 수출을 진행해 오고 있으며, 2019년 기준 전체 물량 약 16톤, 수출 금액은 미국 42.3만\$, 캐나다 5.8만C\$로 집계되었음
- 2020년의 경우 COVID-19 사태에 따라 수출물량이 감소하여 1 ~ 4월까지 수출이 이루어진 것으로 조사되어 전체 물량은 1.3톤, 미국 1.4만\$, 캐나다 1.5만C\$, 대만 1.2만\$로 집계되었음

2. 국외 해외기지 종자 수출 전략 및 실적

- 돌삼다보어는 현재 중국 시장으로 보급이 이루어지고 있으며, 구입 업체들을 대상으로 하는 모니터링을 지속적으로 실시하여, 현장에서 요구하는 사항들을 반영할 수 있도록 데이터를 수집하고 있음
- 현재 중국 터봇에 비해 돌삼다보어의 우수성이 확인되고 있는바, 중국 보급용 생산 라인 자체 프로그램을 유지하여, 현지 양식업체들을 대상으로 지속적인 홍보 및 조사를 통하여 소비자 요구에 맞는 종자를 생산하고자 함
- 중국 현지에서 원활한 터봇 사업화를 위하여 “위해성산무역유한공사”와 양해각서를 체결하여 안정적인 생산체계를 갖추고자 하고 있으며, 현지에서의 안정적인 종자 판매를 위하여 “위해윤도무역유한공사”와 위탁 판매에 대한 양해각서를 체결하여 해당 업체를 통한 유통업체 확보 및 양식업체를 지속적으로 확보하고자 함



그림 51. 해외기지 돌삼다보어 생산을 위한 위해윤도무역유한공사 양해각서

**谅解备忘录**  
(양해각서)

BLUGEN KOREA (以下简称“甲方”) 和 威海润达贸易有限公司 (以下简称“乙方”) 双方为确定高品质黄鳍鲷水产品贸易合作达成谅解备忘录, 内容如下:  
(注) 蓝鳍金边公司 (以下简称“蓝”) 的 韩国 注册 威海润达贸易有限公司 (以下简称“润”) 的 韩国 注册 是 双方 之间 签署 的 谅解备忘录 的 共同 签署 方 且 双方 均 同意 签署 谅解备忘录。

**第一条【目的】(목적)**  
1) 甲方为乙方持续供应 GOLDEN SEED PROJECT 产品-韩国型比目鱼苗, 乙方负责中国地区的销售代理。  
[“蓝”은 “润”에게 지속적으로 GOLDEN SEED PROJECT의 산출물 한국형 납치 종자(魚卵)를 공급한다. “润”은 이를 중국 현지에서 판매·유통을 실시한다.]  
2) 甲方为乙方严格履行本谅解备忘录中规定的权利和义务。  
[“蓝”과 “润”은 본 양해각서로부터 발생하는 권리와 의무를 성실히 이행한다.]

**第二条【地域内容】(지역내용)**  
1) 乙方全部承担甲方产品-韩国型比目鱼苗在中国地区销售的相关责任。  
[“润”은 중국 현지에서 “蓝”이 생산하는 한국형 납치 종자의 판매에 관한 업무를 담당한다.]  
2) 乙方针对中国当地的其他机构或组织持续开展积极的宣传活动。  
[“润”은 중국 현지 지 기관이나 조직에 지속적인 홍보활동을 적극적으로 추진한다.]  
3) 双方为相互促进组织发展进行人力、物力资源的交流。  
[“蓝”과 “润”은 상호간 조직 발전을 위한 인력·물적 자원을 교류한다.]

**第三条【协议期限】(계약기간)**  
1) 本合同自签署日期2018年5月1日起至2019年4月30日止。  
[본 계약의 계약기간은 2018년 5월 1일부터 2019년 4월 30일까지로 한다.]  
2) 本合同有效期截止前30天内, 若双方均未通过书面形式向对方提出终止协议的要求, 则合同期限自动延长一年。  
[계약기간 종료 30일 이전까지 일방 당사자가 상대방에게 계약 기간 갱신을 의사로 통지하지 아니하는 경우 계약 기간은 1년씩 자동 연장된다.]

**第四条【货款支付】(결제·결제 방법)**  
1) 乙方根据甲方所提供的商品, 将货款按物售出后的数量在汇入乙方账户后, 双方另行约定日期后支付给甲方。  
[“润”은 “蓝”으로부터 공급 받은 상품의 출하에 관하여 판매를 실시하고 그 금액을 “蓝”의 통금계좌로 입금 받은 후 “蓝”의 지정을 받은 날짜에 “蓝”에게 지급한다.]

**第五条【协议履行】(이행의무)**  
1) 双方本着诚信原则严格地履行本谅解备忘录的内容。  
[양사는 신의诚實 원칙에 입각하여 본 양해각서의 내용을 성실히 이행한다.]  
2) 双方未经对方的事前同意不得对外透露在共同协议过程中获得的所有信息, 若其中任何一方违反本协议, 应承担全部责任。  
[양사는 공동의 이익을 위해 양측의 모든 사항을 상대방의 사전동의 없이 외부로 유출할 수 없으며, 이를 위반하여 발생하는 그 모든 책임을 위한 당사자가 부담한다.]

**第六条【其他事项】(기타사항)**  
1) 本协议未尽事宜, 双方另行协商解决。  
[본 양해각서에 명시되지 않은 사항은 별도 합의에 의해 처리한다.]  
本谅解备忘录一式两份 (应以韩文本为准), 双方签字盖章后, 各持一份。  
[본 양해각서는 2부를 작성하며(제출본 외에 무인) 양사가 날인한 후 1부씩 보관한다.]

2018年 5月 1日

公司名称: BLUGEN KOREA (营业执照号: 617-86-07386)  
[注册号: (株) 蓝鳍金边公司(사) 注册번호: 617-86-07386]  
地址: 蔚山广域市海云台区松亭中央路 100-14  
(주소: 부산광역시 海雲臺구 송亭中央路 100-14)  
代表理事: 李英淑 (대표이사: 이영숙)

公司名称: 威海润达贸易有限公司 (营业执照号: 91371000MA3JUG6G30)  
[注册号: 威海润达贸易有限公司(사) 注册번호: 91371000MA3JUG6G30]  
地址: 山东省威海市高区威海路 11号  
(주소: 산둥성威海시 高區威海路 11號)  
代表理事: 李英淑 (대표이사: 이영숙)

그림 52. 해외기지 돌삼다보어 판매를 위한 위해윤도무역유한공사 양해각서

- 중국 해외기지 돌삼다보어 종자 생산을 위하여 현지 직원이 상주하며 관리하고, 유통체계 안정화를 위하여 2018년부터 현지 업체와 위탁 판매 계약을 체결하고 중국 현지 양식업체를 대상으로 판매 진행함
- 중국 현지 종자 생산 및 터벗 사업을 위하여 중국 현지 업체 2곳과 계약을 체결하고 해외기지 운영 및 유통체계 안정화를 위하여 지속적인 협업을 진행하고 있음



그림 53. 2019년 돌삼다보어 종자 수출 현장

- 중국 해외기지에서 시험적인 생산에 성공하여 현지 대행업체를 통하여 해광수산물과 공동으로 판매계약을 체결하여 산동성 지역의 양식업체로 2017년 12월 중 판매를 완료하였으며, 판매 총액은 ¥2,800,000으로 약 43.7만 달러 성과 달성함(총 1,400,000마리 판매 / 마리당 2¥)

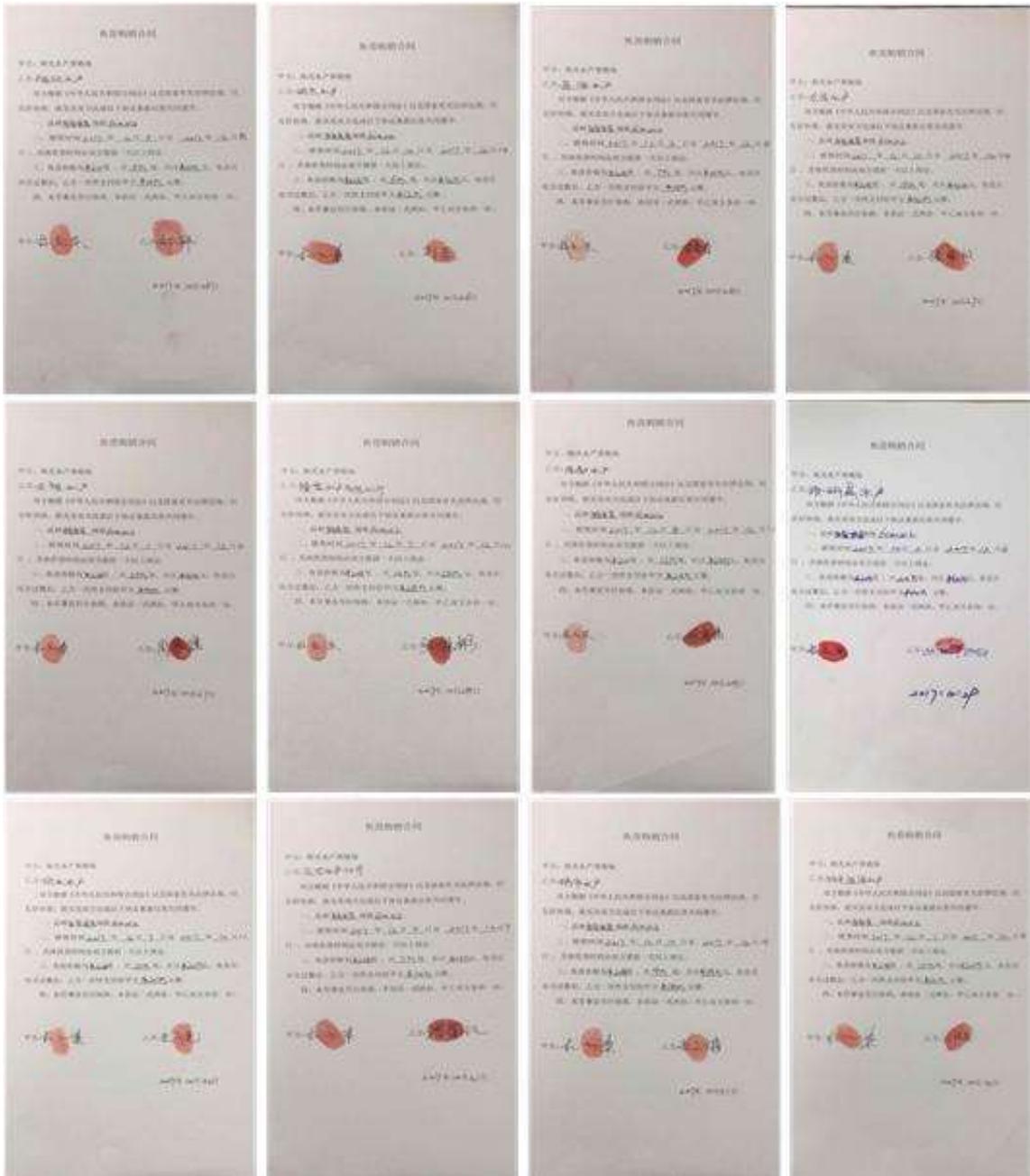


그림 54. 2017년 중국 해외기지 종자 판매 계약서

표 31. 2017년 중국 현지 종자 판매 내역

번호	판매 일자	판매업체	판매 마리수	입금 일자	입금금액(₩)	금액(\$)	비고
1	2017.12.03	해도수산	120,000	2017.12.05	240,000	37,441.1	
2	2017.12.04	정용수산	70,000	2017.12.05	140,000	21,840.6	
3	2017.12.05	복왕수산	50,000	2017.12.06	100,000	15,610.9	
4	2017.12.04	서화수산	90,000	2017.12.06	180,000	28,099.6	
5	2017.12.04	란해수산	70,000	2017.12.07	140,000	21,815.3	
6	2017.12.06	해명위수 산	200,000	2017.12.08	400,000	62,395.0	
7	2017.12.10	명걸수산	60,000	2017.12.11	120,000	18,702.2	
8	2017.12.09	용천수산	140,000	2017.12.13	280,000	43,601.6	
9	2017.12.11	용창수산	150,000	2017.12.15	300,000	46,837.8	
10	2017.12.07	양광해양 수산	100,000	2017.12.18	200,000	31,244.4	
11	2017.12.07	성복수산	250,000	2017.12.21	500,000	78,272.9	
12	2017.12.09	신수수산	100,000	2017.12.22	200,000	31,448.6	
		소계	1,400,000		2,800,000	437,310.0	

- 2차년도 상반기에는 돌삼다보어 중간 종자를 포함하여 약 130만 마리를 판매하여 약 43만 달러의 판매 성과를 달성하였으며, 하반기에는 중간 종자를 포함하여 약 110만 마리를 판매하여 약 34만 달러의 판매 성과를 달성하였음

표 32. 2018년 상반기 돌삼다보어 종자 판매 내역

번호	판매업체	판매 마리수	입금 일자	입금금액(₩)	금액(\$)	비고
1	해동수산	30,000	2018.08.14	240,000	35,995	마리당 8₩ (중간 종자)
2	부해수산	107,000	2018.08.14	214,100	32,195	마리당 2₩
3	홍해수산	90,000	2018.09.03	180,000	27,089	마리당 2₩
4	대련삼산도수산	185,000	2018.08.30	370,000	55,833	마리당 2₩
5	해성수산	200,000	2018.09.01	400,000	60,225	마리당 2₩
6	어가수산	130,000	2018.09.03	260,000	39,200	마리당 2₩
7	장광수산	150,000	2018.09.02	300,000	45,389	마리당 2₩
8	금합수산	150,000	2018.09.05	300,000	45,316	마리당 2₩
9	성광수산	140,000	2018.09.06	280,000	42,132	마리당 2₩
10	만윤달수산	150,000	2018.09.05	299,999	45,315	마리당 2₩
	소계	1,332,000		2,844,099	428,689	



그림 55. 2018년 상반기 중국 해외기지 종자 판매 계약서

표 33. 2018년 하반기 돌삼다보어 종자 판매 내역

번호	판매업체	판매 마리수	입금 일자	입금금액(₩)	금액(\$)	비고
1	발원수산	15,000	2018.10.15	310,000	46,414	마리당 10₩ (중간 종자)
		80,000				마리당 2₩
2	유안수산	250,000	2018.11.26	500,000	74,416	마리당 2₩
3	잉동수산	250,000	2018.11.26	500,000	74,416	마리당 2₩
4	사파이어수산	250,000	2018.12.12	500,000	74,689	마리당 2₩
5	해용수산	250,000	2018.12.10	500,000	74,985	마리당 2₩
	소계	1,095,000		2,310,000	344,920	

\*입금일 기준 환율 적용하여 계산

\*달러 이하 절사함

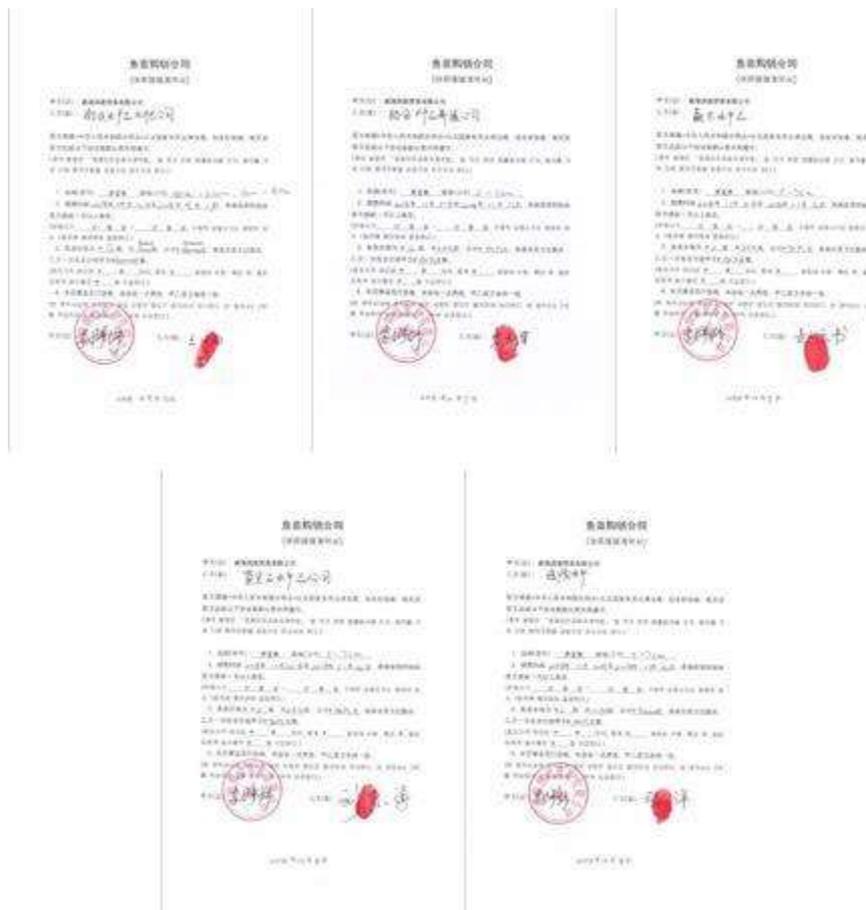


그림 56. 2018년 하반기 중국 해외기지 종자 판매 계약서

- 3차년도 상반기에는 중간 종자 약 18만 마리, 종자 약 350만 마리를 생산하여 판매하였으며, 약 128만 달러의 판매성과를 달성하였음
- 2019년 상반기 생산 및 관리 중인 종자를 중국 현지 업체 16곳에 판매하였으며, 2018년 기준 약 43.7%의 재구매율(7개 업체 재구매)을 보여 돌삼다보어에 대한 인식은 점차적으로 확대되고 있음을 확인함

표 34. 2019년 상반기 돌삼다보어 중간 종자 판매 내역

번호	판매업체	판매 마리수	입금 일자	입금금액(₩)	금액(\$)	비고
1	발원수산	86,000	2019.07.15	860,000	129,014	
2	해동수산	50,000	2019.07.11	500,000	75,008	
3	천위수산	20,000	2019.07.19	200,000	30,003	
4	화신수산	19,000	2019.07.29	190,000	28,503	
	소계	175,000		1,750,000	262,528	

\*환율은 2019년 7월 월평균 환율을 적용하여 계산

\*달러 이하 절사함



그림 57. 2019년 상반기 중국 해외기지 종자 판매 계약서

표 35. 2019년 상반기 돌삼다보어 종자 판매 내역

번호	판매업체	판매 마리수	입금 일자	입금금액(₩)	금액(\$)	비고
1	샘해수산	400,000	2019.08.17	800,000	116,787	
2	장광수산	300,000	2019.08.23	600,000	87,590	
3	금합수산	250,000	2019.08.25	500,000	72,992	
4	유안수산	300,000	2019.09.01	600,000	86,944	
5	해용수산	300,000	2019.09.05	600,000	86,944	
6	부해수산	300,000	2019.09.10	600,000	86,944	
7	해보수산	350,000	2019.09.16	700,000	101,435	
8	형제수산	200,000	2019.09.20	400,000	57,963	
9	해정해수산	200,000	2019.09.23	400,000	57,963	
10	복창수산	300,000	2019.09.25	600,000	86,944	
11	진광수산	300,000	2019.09.28	600,000	86,944	
12	용흥수산	300,000	2019.09.29	600,000	86,944	
	소계	3,500,000		7,000,000	1,016,394	

\*환율은 2019년 8월 및 9월 월평균 환율을 적용하여 계산

\*달러 이하 절사함



그림 58. 2019년 하반기 중국 해외기지 종자 판매 계약서

- 4차년도에는 12월 기준 종자 약 380만 마리를 판매하여 약 114.7만 달러의 판매 성과를 달성하였으며, 잔여 물량은 판매업체가 확보되는 대로 계약을 체결하고 판매할 계획임
- 2019년에는 약 43.7%(총 16개 업체 중 7개 업체)의 재구매율을 확인하였으며, 2020년에는 판매 전략 수립 당시 구입 이력이 있는 업체를 대상으로 우선 계약을 체결하는 것을 목표로 하여, 12월 현재 약 90%(총 10개 업체 중 9개 업체)가 재구매를 진행하였음

표 36. 2020년 하반기 돌삼다보어 중간 종자 판매 내역(중국)

번호	판매업체	판매 마리수	입금 일자	입금금액(₩)	금액(\$)	비고
1	장광수산	450,000	2020.09.03	900,000	135,974	1₩ : 182.35원
2	금합수산	400,000	2020.09.03	800,000	120,866	1\$ : 1,206.95원
3	유안수산	400,000	2020.09.04	800,000	120,746	1₩ : 182.37원
4	해용수산	400,000	2020.09.04	800,000	120,746	1\$ : 1,208.28원
5	부해수산	350,000	2020.09.08	700,000	105,726	1₩ : 182.45원
6	발해수산	400,000	2020.09.08	800,000	120,830	1\$ : 1,207.97원
7	해동수산	400,000	2020.09.11	800,000	120,758	1₩ : 182.05원
8	형제수산	400,000	2020.09.11	800,000	120,758	1\$ : 1,206.04원
9	진광수산	300,000	2020.09.14	600,000	90,563	1₩ : 182.5원
10	복창수산	300,000	2020.09.14	600,000	90,563	1\$ : 1,209.09원
	소계	3,800,000		7,600,000	1,147,530	

\*환율은 기준은 일자별 환율 적용(출처 : 하나은행 외환포털)

\*달러 이하 절사함



그림 59. 2020년 하반기 중국 해외기지 종자 판매 계약서

- 5차년도에는 12월 기준 종자 약 414.5만 마리를 판매하여 약 170.4만 달러의 판매 성과를 달성하였으며, 잔여 물량은 판매업체가 확보되는 대로 계약을 체결하고 판매할 계획임
- 2020년에는 12월 기준 약 90%(총 10개 업체 중 9개 업체)가 재구매를 진행하였음. 2021년에는 판매 전략 수립 당시 구입 이력이 있는 업체를 대상으로 우선 계약을 체결하는 것을 목표로 하여 판매를 진행하였음

표 37. 2021년 상반기 돌삼다보어 종자 판매 내역(중국)

번호	판매업체	판매 마리수	입금일자	입금금액(₩)	금액(\$)	비고
1	경홍수산	50,000	2021.04.01.	500,000	76,055	1¥ : 172.28원 1\$ : 1,132.60원
2	화통수산	50,000	2021.04.06.	500,000	76,006	1¥ : 171.44원 1\$ : 1,127.80원
3	고태수산	50,000	2021.04.07.	500,000	76,284	1¥ : 171.32원 1\$ : 1,122.90원
4	성사수산	50,000	2021.04.08.	500,000	76,406	1¥ : 170.60원
5	발원수산	45,000	2021.04.08.	450,000	68,765	1\$ : 1,116.40원
6	해동수산	50,000	2021.04.10.	500,000	76,262	1¥ : 170.60원 1\$ : 1,118.50원
7	진광수산	50,000	2021.04.13.	500,000	76,234	1¥ : 171.42원 1\$ : 1,124.30원
	소계	345,000		3,450,000	526,012	

\*환율은 기준은 일자별 환율 적용(출처 : 우리은행 외환포털)

\*달러 이하 절사함



그림 60. 2021년 상반기 중국 해외기지 종자 판매 계약서

표 38. 2021년 하반기 1차 돌삼다보어 중간 종자 판매 내역

번호	판매업체	판매 마리수	입금일자	입금금액(₩)	금액(\$)	비고
1	위안수산	400,000	2021.09.15.	800,000	124,170	1¥ : 181.94원 1\$ : 1,172.20원
2	합성수산	400,000	2021.09.17.	800,000	124,472	1¥ : 181.90원 1\$ : 1,169.10원
3	장강수산	450,000	2021.09.23.	900,000	139,479	1¥ : 182.50원 1\$ : 1,177.60원
4	형제수산	400,000	2021.09.27.	800,000	123,808	1¥ : 181.89원 1\$ : 1,175.30원
5	복화수산	350,000	2021.09.28.	700,000	108,384	1¥ : 182.07원
6	성수수산	400,000	2021.09.28.	800,000	123,868	1\$ : 1,175.90원
7	경흥수산	300,000	2021.10.08.	600,000	92,941	1¥ : 184.38원
8	성사수산	300,000	2021.10.08.	600,000	92,941	1\$ : 1,190.30원
9	명위수산	400,000	2021.10.11.	800,000	124,015	1¥ : 185.00원
10	천신수산	400,000	2021.10.12.	800,000	124,015	1\$ : 1,193.40원
	소계	3,800,000		7,600,000	1,178,094	



그림 61. 2021년 하반기 중국 해외기지 종자 판매 계약서

## 7절. 돌삼다보어의 유전 육종

### 1. 육종핵집단의 유전적 관리

#### 가. 친어후보군의 지속적인 유전자원 수집 및 유전형 분석

- 터봇 F0 세대 친어 모집 후 개체 표지 및 유전자 샘플 공동 작업 및 유전형 분석
- 1단계 GSP 프로젝트에서 확보한 터봇 개체와 추가 모집한 터봇을 F0세대로 활용함
- 터봇 친어후보군 집단의 성별을 확인한 후 PIT chip을 삽입하고 ID와 전장, 체중을 측정하였으며, 유전자 분석용 지느러미 샘플을 수집함
- 지속적으로 우수한 유전형 및 표현형 형질을 가진 터봇 친어집단을 선별하여 육종핵집단으로 구성함



그림 62. 터봇 F0세대 PIT chip 이식 후 지느러미 샘플링 및 개체 측정

#### 나. 1차, 2차, 3차 돌삼다보어 F1세대 친어후보군 선발, 개체 표지 샘플 채취

- 육종프로그램에 의해 생산된 돌삼다보어 F1세대 개체 중 관능검사를 통해 타깃 표현형 형질이 우수하며, 기형이 아닌 정상적인 개체를 선발하였으며, PIT chip을 삽입하고 ID와 전장, 체중을 측정하였으며, 유전자 분석용 지느러미 일부를 채취하는 등 세부 프로젝트 간의 공동작업이 이루어졌음
- 상기 육종을 위한 개체이력 태깅 작업은 매년 진행하였으며, 유전 육종을 위한 기초자료로 활용하였음. 또한, 지속적인 모니터링을 통해 확보한 타깃 표현형 및 breeding values를 이용하여 육종핵집단으로 구성하였음



그림 63. 돌삼다보어 F1세대 PIT chip 이식



그림 64. 돌삼다보어 F1세대 지느러미 샘플링 및 육종 타깃 표현형 측정

## 2. Microsatellite 마커를 활용한 유전형 및 유전적 다양성 분석

### 가. 터봇 개체별 PIT chip ID 확인

- PIT chip이 삽입된 터봇 개체의 ID에 따라 꼬리지느러미 약 2mg을 절제하여 99.9% 에탄올에 샘플링함

### 나. Genomic DNA 추출

- 터봇 꼬리지느러미 조직 일부를 절취하여 genomic DNA 추출 kit를 사용하여 260/280 ratio 1.8 이상, 농도 100ng/ul 이상으로 추출하여 마커 개발과 유전형 분석에 이용하고 남은 DNA는 -80°C에 보관함
- 추가적으로 주로 발생하는 질병에 대한 검사를 위해 두신, 아가미 조직 및 혈액을 채취하여 DNA 추출하고 질병 검사를 진행하였음
- 유전형 분석하기 위해서는 High quality DNA 확보가 필요하며(DNA quality가 떨어질 경우 noise peak, no amplification 등이 발생) Omega, bioneer, promega사의 DNA kit를 이용하여 실험을 진행하도록 하였음
- DNA extraction 방법으로 에탄올에 고정된 조직 일부를 자른 후 증류수로 세척하고 Proteinase K(20 mg/ml)와 lysis buffer에 조직을 60°C에서 4시간 이상 완전히 녹인 후 DNA extraction kit에 있는 시약을 이용하여 DNA를 추출함
- 자세한 추출 방법은 본 연구에 활용된 kit 제조사의 표준 프로토콜을 이용함



그림 65. 돌삼다보어 꼬리지느러미의 DNA 추출 과정

#### 다. 돌삼다보어의 유전형 분석(genotyping)

- 외형이 우수한 친어 140마리 수집 및 유전형 분석을 진행하였으며, 이를 통한 유전적 다양성 결과값, 육종핵집단 선발을 진행함
- 기 개발되어 특허출원이 완료된 터봇의 11개 마커로 구성된 multiplex PCR set(8 loci×2set)정보 및 Veriti® 96-Well Thermal Cycler(Applied Biosystems) PCR 장비를 이용하여 유전자를 증폭하였음
- 각 시료에 맞춰 multiplex PCR set의 분석은 판독력이 우수한 자동염기서열분석기 AB3730XL(Applied Biosystems, USA)를 사용하였음
- 활용한 프라이머는 정방향 올리고(forward primer)의 5' 쪽에 FAM, VIC, NED, PET 등 네 가지의 형광물질을 부착하여 증폭물의 크기가 서로 중복될 경우 형광물질 색으로 구분할 수 있도록 다른 색의 형광물질로 표시시켰음
- 증폭이 완료된 PCR 산물은 30X dilution 시킨 후, 증폭산물 1ul와 size standard GeneScan LIZ 500(Applied Biosystems, USA)및 Hi-Di Formade (Applied Biosystems, USA) 혼합물을 1:9로 희석하여 분석을 위한 시료로 사용하였음
- 이 시료는 자동염기서열분석기를 이용하여 크기별로 분류되도록 전기영동 하였으며, 각 마커에 대한 표준 allele ladder를 제작하여 GeneMapper version 4.0(Applied Biosystems, USA)등 분석프로그램을 이용하였음
- microsatellite scoring 후 크기와 표식자의 종류별로 분류한 후 자료를 취합하고 allele 값에 대한 구간을 설정하여 최종값을 분석하였음

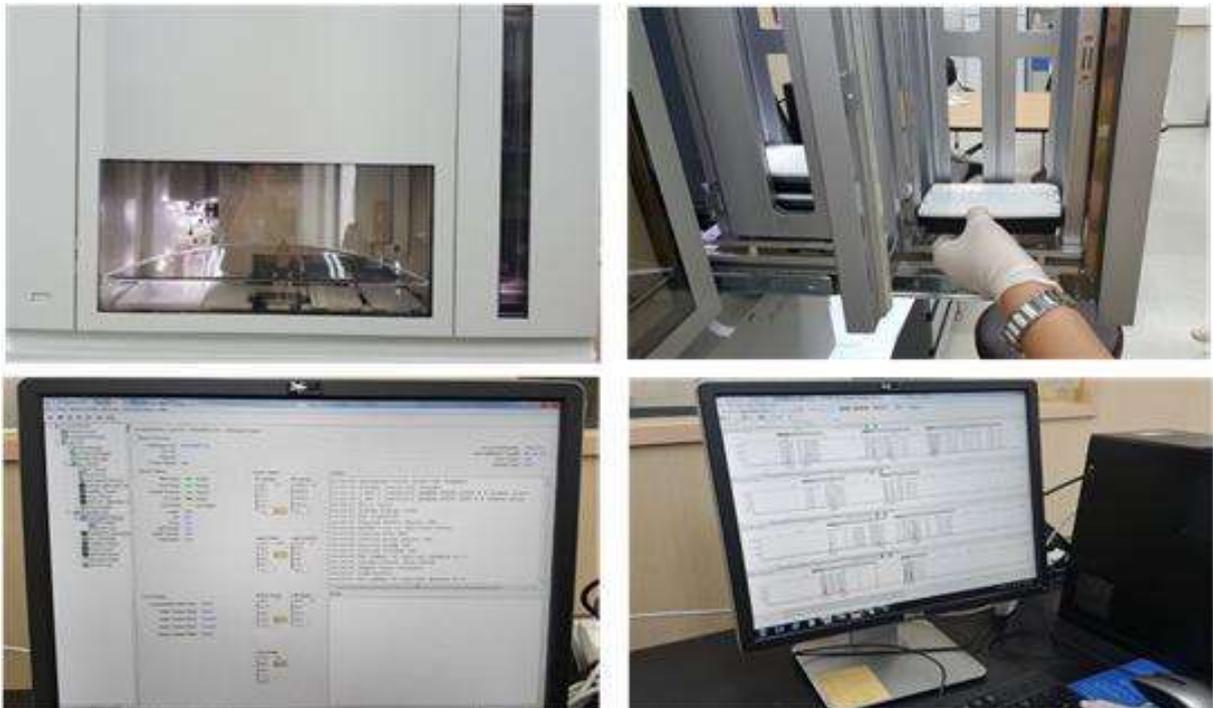


그림 66. 자동염기서열분석기를 활용한 microsatellite 마커 유전형 분석

라. 돌삼다보어의 집단유전학적 유전다양성 분석

- 각 microsatellite 마커별 대립유전자들은 Cervus 3.0 프로그램을 이용하여 대립유전자 빈도(allele frequency), 각 유전자별 대립유전자수, 이형접합체율 관찰치(Ho, observed heterozygosity), 이형접합체율 기대치(He, expected heterozygosity), 다형성 정보지수 (PIC: Polymorphic Information Content)를 산출하였음
- Hardy-Weinberg equilibrium(HWE), FIS, Dendrogram은 Popgene프로그램을 이용하여 분석하였음

표 39. 집단유전학적 유전다양성 분석에 활용한 소프트웨어

구분	분석 내용
Cervus 3.07 software (Marshall et al., 1998)	유전자좌당 대립 유전자 빈도(A allele frequency), 대립유전자수, 관찰치, 기대치 이형접합체율(Ho, He), 다형성 정보지수(PIC; Polymorphic Information Content), 친자확인
FSTAT ver2.93 software (Goudet, 1995)	Allelic richness, Gene Diversity, FIS 값
PopGene software	Hardy-Weinberg equilibrium(HWE) 유의성 검정, Genetic Distance

### 3. 돌삼다보어 친어후보군의 지속적인 유전자원 수집 및 유전형 분석

#### 가. 친어후보군의 지속적인 유전자원 수집 및 유전형 분석

- 분자 마커는 유전적인 연구 목적에 따라 여러 genome 내의 변이들을 활용하는데, 일반적으로 분자 마커는 염기서열 혹은 마커를 SSR 변이의 반복 사이즈를 기준으로 활용함
- 연구에서는 microsatellite를 분자 마커로 활용하였는데, microsatellite는 genome 내의 ATATATATAT (AT di-microsatellite)와 같이 뉴클레오타이드 특정 motif 서열이 일정한 횟수로 반복되는 영역을 말함. 이전의 연구에서 확인한 유전적 다양성을 기준으로 1차 GSP 과제에서 확보한 터봇 친어후보군과 국내에서 수집한 터봇을 포함하여 친어후보군을 구성함
- 유전적 다양성이 확보되지 않으면 선발의 기본이 되는 유전력이 낮아지며 결과적으로 유전력과 육종가를 높이기 위해서는 근친도를 급속하게 상승할 수밖에 없는 상황이 되므로 유전적 변이를 최대한 다양하게 친어후보군을 모집할 필요가 있음

표 40. F0세대 친어후보군 유전형 분석 결과

No.	USC10		USC152		USC157		USC162		USC22		USC272		USC41		USC42		USC44		USC47		USC86	
	A 1	A 2	A 1	A 2	A 1	A 2	A 1	A 2	A 1	A 2	A 1	A 2	A 1	A 2	A 1	A 2	A 1	A 2	A 1	A 2	A 1	A 2
1	237	241	132	140	110	112	223	223	298	302	232	240	187	189	342	350	166	166	155	169	144	150
2	237	247	128	140	108	114	223	223	302	302	232	240	185	189	332	338	164	166	155	155	166	176
3	237	237	136	136	108	110	223	223	298	320	238	246	183	185	338	344	166	166	155	171	144	150
4	237	243	124	124	110	110	221	223	300	302	242	250	185	187	326	346	164	164	161	167	144	150
5	237	247	136	140	108	110	223	223	298	320	230	232	185	187	338	344	164	166	155	155	144	150
5	233	237	128	128	112	114	221	223	298	306	232	234	193	193	332	350	170	170	167	173	144	150
6	233	235	128	128	108	112	221	223	298	306	232	234	179	193	336	350	170	170	167	173	150	150
7	247	247	136	140	108	112	223	223	298	320	238	246	183	185	352	356	166	166	155	171	144	150
8	247	247	136	140	108	110	223	223	298	314	230	238	183	185	344	356	164	166	155	171	144	150
9	237	237	136	140	112	114	223	223	294	320	230	232	185	187	338	344	166	166	155	171	150	166
10	237	247	136	140	108	112	223	223	294	320	238	246	183	187	344	356	164	166	155	171	148	166
11	233	235	134	134	108	114	221	223	306	306	234	240	179	193	332	350	170	170	167	169	142	144
12	245	247	136	136	110	110	223	223	296	302	232	234	189	189	342	362	166	170	169	179	150	176
▼																						
▼																						
▼																						
136	247	247	136	140	108	112	223	223	298	320	232	246	185	187	352	356	164	166	171	171	144	148
137	247	247	136	140	112	114	223	223	306	320	226	230	189	197	326	326	164	166	155	167	148	150
138	247	247	128	140	108	110	223	225	298	298	230	246	179	183	352	358	170	170	155	171	142	144
139	247	247	140	140	110	114	223	223	294	298	234	246	187	189	344	354	166	170	155	155	150	166
140	233	237	132	136	108	110	223	223	302	306	246	246	187	189	338	344	164	170	167	167	150	166

## 나. F0세대 돌삼다보어 집단 유전적 다양성 및 근교계수 등 유전적 변수 분석

- 돌삼다보어 F0세대 친어후보군에 대한 유전적 다양성 분석 및 근친도, 유전변수 등을 분석하였으며 전체 결과값을 살펴보면 근친도인 Fis 값은 일반생물에서 유전적으로 안정적인 경우 0.2 이하의 값을 나타내며 돌삼다보어의 경우에는 0.015로 유전적으로 안정적인 상태인 것을 알 수 있음
- Gene diversity 값에서도 0.909의 높은 값을 나타내어 유전적으로 다양성이 지속적으로 유지가 되고 있다는 것을 알 수 있음. 그 외에 대립유전자수도 평균 10.1로 다양한 대립유전형을 보유하고 잘 유지가 되고 있는 것을 확인할 수가 있었음

표 41. 돌삼다보어 F0세대 친어후보군 유전적 다양성 분석 결과

Loci	N	k	Ar	HObs	HExp	PIC	HWEp	FIS	Gene diversity
TB_MS_01	140	6.0	6.0	0.936	0.885	0.892	0.0000	-0.058	0.895
TB_MS_02	140	13.0	13.0	0.803	0.842	0.855	0.4571	0.046	0.839
TB_MS_03	140	15.0	15.0	0.894	0.849	0.941	0.0000	0.058	0.942
TB_MS_04	140	11.0	11.0	0.892	0.896	0.886	0.6587	0.004	0.896
TB_MS_05	140	7.0	7.0	0.956	0.933	0.928	0.0000	-0.025	0.933
TB_MS_06	140	13.0	13.0	0.732	0.751	0.802	0.0000	0.004	0.921
TB_MS_07	140	11.0	11.0	0.947	0.958	0.935	0.0000	0.012	0.858
TB_MS_08	140	4.0	4.0	0.860	0.892	0.910	0.7079	0.036	0.874
TB_MS_09	140	14.0	14.0	0.875	0.950	0.907	0.0000	0.079	0.950
TB_MS_10	140	9.0	9.0	0.888	0.861	0.893	0.0000	-0.030	0.935
TB_MS_11	140	8.0	8.0	0.915	0.927	0.949	0.0000	0.044	0.957
Average	140.0	10.1	10.1	0.882	0.886	0.900	0.1658	0.015	0.909

※ 시료 수(N), 대립유전자수(K), 집단 크기를 보정한 대립유전자수(Ar; allelic richness), 이형접합체율 관찰치(Ho; observed heterozygosity), 이형접합체율 기대치(He; expected heterozygosity), 다형성 정보지수(PIC; polymorphism information contents), probability of Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) tests (p), inbreeding coefficient (FIS), 유전자 다양성 (Genetic Diversity)

다. F1세대 돌삼다보어 집단 유전적 다양성 및 근교계수 등 유전적 변수 분석

- 돌삼다보어 F1세대 육종핵집단에 대한 유전적 다양성 분석 및 근친도, 유전변수 등을 분석하였으며 전체 결과값을 살펴보면 근친도인 Fis 값은 일반생물에서 유전적으로 안정적인 경우 0.2 이하의 값을 나타내며 돌삼다보어(F1)의 경우에는 0.1 이하로 유전적으로 안정적인 상태인 것을 알 수 있음
- Gene diversity 값에서도 0.770의 높은 값을 나타내어 유전적으로 다양성이 지속적으로 유지가 되고 있다는 것을 알 수 있음. 그 외에 대립유전자수도 평균 8.9로 다양한 대립유전형을 보유하고 잘 유지가 되고 있는 것을 확인할 수가 있었음

표 42. 1차 돌삼다보어 F1세대 친어후보군 유전형 분석 결과

No.	USC10		USC152		USC157		USC162		USC22		USC272		USC41		USC42		USC44		USC47		USC86	
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1	247	251	128	136	108	112	223	223	304	306	232	234	187	189	326	338	164	170	167	169	150	166
2	247	247	128	140	112	114	223	223	298	304	230	246	187	193	330	344	166	170	155	155	150	166
3	237	237	136	140	108	110	223	223	298	320	230	232	183	183	344	356	164	166	155	155	150	166
4	237	237	136	140	108	110	223	223	298	314	230	232	183	187	338	352	166	166	155	171	144	148
5	247	251	136	136	112	114	221	223	294	306	230	246	187	189	326	340	164	168	167	169	150	166
5	233	237	134	134	108	112	221	223	306	306	232	234	179	193	336	350	170	170	167	169	142	150
6	247	247	128	140	114	114	221	223	298	302	230	236	179	187	344	344	164	170	155	171	150	166
7	237	241	140	140	108	110	223	223	294	320	246	252	183	187	344	344	164	166	171	179	150	166
8	237	247	136	140	108	110	223	223	298	314	230	238	185	187	344	356	166	166	155	171	144	150
9	237	247	136	140	108	110	223	223	298	320	230	232	183	185	338	352	166	166	155	171	144	150
10	247	247	136	140	108	110	223	223	294	320	230	238	183	183	352	356	164	166	155	171	150	166
11	237	241	136	140	110	114	223	223	294	298	230	252	183	187	338	344	164	166	155	171	152	166
12	237	241	124	140	114	114	221	223	302	306	232	240	189	193	326	342	164	166	161	167	150	150
13	239	251	128	140	110	112	223	223	294	294	240	242	195	197	338	350	168	170	155	179	148	150
14	247	247	136	140	108	110	223	225	302	320	238	252	185	187	344	356	168	168	167	171	148	150
▼																						
▼																						
▼																						
700	237	247	128	140	108	110	223	223	302	308	236	242	185	189	332	338	164	164	155	155	144	176
701	241	245	136	140	112	112	223	223	294	302	232	232	187	189	338	344	170	172	167	179	148	150
702	247	247	136	140	110	112	223	223	294	302	240	246	189	189	358	376	164	168	169	181	144	176
703	243	247	128	188	108	114	221	223	296	320	246	250	185	193	332	342	164	166	167	167	150	150
704	233	237	132	136	108	110	223	223	302	306	246	246	187	189	338	344	164	170	167	167	150	166

표 43. 1차 돌삼다보어 F1세대 친어후보군 유전적 다양성 분석 결과

Loci	N	k	Ar	HObs	HExp	PIC	HWEp	FIS	Gene diversity
TB_MS_01	552	4	4	0.716	0.720	0.670	0.000	0.006	0.720
TB_MS_02	720	11	10.77	0.826	0.879	0.866	0.000	0.060	0.879
TB_MS_03	716	13	12.90	0.823	0.834	0.816	0.000	0.013	0.834
TB_MS_04	723	10	9.71	0.822	0.759	0.735	0.000	-0.068	0.769
TB_MS_05	723	7	7	0.768	0.804	0.775	0.000	0.045	0.804
TB_MS_06	717	12	11.79	0.813	0.798	0.772	0.000	-0.022	0.796
TB_MS_07	721	11	10.93	0.624	0.688	0.661	0.000	0.093	0.688
TB_MS_08	722	4	4	0.701	0.573	0.551	0.000	-0.222	0.573
TB_MS_09	722	12	11.99	0.910	0.863	0.847	0.000	-0.055	0.863
TB_MS_10	722	7	7	0.940	0.789	0.740	0.000	-0.223	0.769
TB_MS_11	711	7	7	0.765	0.772	0.739	0.000	0.009	0.772
Average	704.5	8.9	8.82	0.792	0.770	0.739	0.000	-0.033	0.770

※시료 수(N), 대립유전자수(K), 집단 크기를 보정한 대립유전자수(Ar; allelic richness), 이형접합체율 관찰치(Ho; observed heterozygosity), 이형접합체율 기대치(He; expected heterozygosity), 다형성 정보지수(PIC; polymorphism information contents), probability of Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) tests (p), inbreeding coefficient (FIS), 유전자 다양성 (Genetic Diversity).

표 44. 2차 돌삼다보어 F1세대 친어후보군 유전형 분석 결과

No.	USC157 TB_MS_ 01		USC44 TB_MS_ 02		USC42 TB_MS_ 03		USC86 TB_MS_ 04		USC41 TB_MS_ _05		USC22 TB_MS_ 06		USC15 2 TB_MS_ _07		USC162 TB_MS_ 08		USC272 TB_MS_ 09		USC47 TB_MS_ 10		USC10 TB_MS_ 11	
	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2
1	108	112	164	164	326	338	150	152	187	187	306	308	128	140	223	225	232	238	155	173	237	247
2	112	112	170	172	338	338	164	166	185	189	296	296	130	136	221	223	246	246	171	171	247	247
3	112	114	164	172	350	352	144	150	185	185	296	306	138	138	223	225	232	238	155	171	237	247
4	108	112	164	170	342	342	150	166	189	189	294	308	128	138	221	223	232	238	155	181	233	237
5	110	114	164	170	342	342	150	150	187	189	294	308	128	138	221	225	232	238	169	171	237	247
6	112	114	166	170	338	342	148	148	185	187	294	306	136	140	219	225	238	246	155	171	237	251
7	108	108	164	164	326	358	150	150	183	187	298	298	138	140	221	223	236	236	167	167	237	239
8	110	114	166	170	342	358	148	150	179	187	298	306	128	138	223	225	246	252	173	179	237	237
9	112	114	170	170	338	346	144	166	185	189	306	308	140	140	221	223	232	232	167	171	237	247
10	108	108	170	170	326	338	150	152	185	189	296	314	122	140	223	223	236	246	155	171	237	247
11	112	114	164	164	326	342	150	152	187	187	306	308	140	140	223	225	238	246	155	171	237	237
12	108	108	164	164	344	358	166	172	185	187	302	308	122	122	221	223	232	236	155	167	237	239
13	108	112	164	164	338	350	142	150	179	185	294	294	136	140	223	223	238	252	155	173	237	251
14	108	108	164	164	326	358	150	150	179	183	302	308	122	138	221	223	232	254	155	167	237	239
▼																						
▼																						
▼																						
440	108	114	164	172	340	342	148	150	179	187	298	302	140	140	221	223	246	252	173	181	237	237
441	110	112	164	172	338	358	144	150	187	187	298	306	128	140	223	225	230	232	171	179	237	237
442	110	112	166	168	330	338	146	164	183	187	306	314	122	140	223	223	252	252	155	171	237	237
443	108	112	164	166	340	342	144	148	179	187	298	302	140	140	223	225	230	232	173	181	237	237
444	108	112	164	170	326	338	142	148	187	187	306	308	128	140	223	223	232	238	155	171	237	237
445	108	112	164	170	326	338	150	152	187	187	302	308	128	128	223	223	232	238	155	173	237	247
446	108	112	170	172	338	358	144	150	187	187	306	306	128	138	223	225	230	246	171	179	237	237
447	108	112	170	170	326	338	152	176	183	185	306	314	122	140	223	225	232	236	155	179	247	247
448	112	114	164	170	326	338	144	164	185	193	294	308	136	136	221	223	232	246	155	167	237	245
449	112	112	170	172	338	338	152	164	185	189	296	296	136	140	223	225	232	246	167	179	247	247

- 교배지침에 따른 2019년 수집된 돌삼다보어 F1세대 친어후보군 450마리 유전적 다양성을 분석해 보았을 때, 아래의 표와 같이 gene diversity의 평균이 0.756으로 유전적 다양성과 유전적 평형을 잘 유지하고 있는 것으로 나타남. 집단 내 근친도 역시 -0.024로 다양성 유지가 잘 유지되고 있음

표 45. 2차 돌삼다보어 F1세대 친어후보군 유전적 다양성 분석 결과

Loci	N	k	Ar	HObs	HExp	PIC	HWEp	FIS	Gene diversity
TB_MS_01	449	4	4	0.771	0.737	0.687	0.0000	-0.034	0.737
TB_MS_02	449	6	6	0.813	0.761	0.723	0.0000	-0.052	0.761
TB_MS_03	449	16	16	0.924	0.856	0.84	0.0000	-0.068	0.856
TB_MS_04	449	11	11	0.826	0.83	0.812	0.0000	0.004	0.83
TB_MS_05	449	7	7	0.704	0.722	0.684	0.0000	0.018	0.722
TB_MS_06	449	7	7	0.793	0.82	0.797	0.0000	0.027	0.82
TB_MS_07	449	10	10	0.675	0.807	0.78	0.0000	0.132	0.807
TB_MS_08	449	4	4	0.751	0.616	0.553	0.0000	-0.135	0.616
TB_MS_09	449	12	12	0.898	0.827	0.805	0.0000	-0.071	0.827
TB_MS_10	449	9	9	0.891	0.799	0.771	0.0000	-0.092	0.799
TB_MS_11	449	7	7	0.539	0.543	0.502	0.0000	0.004	0.543
Average	449.0	8.5	8.5	0.780	0.756	0.723	0.0000	-0.024	0.756

※시료 수(N), 대립유전자수(K), 집단 크기를 보정한 대립유전자수(Ar; allelic richness), 이형접합체율 관찰치(Ho; observed heterozygosity), 이형접합체율 기대치(He; expected heterozygosity), 다형성 정보지수(PIC; polymorphism information contents), probability of Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) tests (p), inbreeding coefficient (FIS), 유전자 다양성(Genetic Diversity)

표 46. 3차 돌삼다보어 F1세대 친어후보군 유전적 다양성 분석 결과

Loci	N	k	Ar	HObs	HExp	PIC	HWEp	FIS	Gene diversity
TB_MS_01	200	4	4.0	0.820	0.733	0.681	0.003	-0.120	0.732
TB_MS_02	200	6	6.0	0.725	0.700	0.656	0.000	-0.036	0.700
TB_MS_03	200	11	11.0	0.870	0.841	0.820	0.306	-0.034	0.841
TB_MS_04	200	8	8.0	0.920	0.809	0.779	0.000	-0.138	0.808
TB_MS_05	200	5	5.0	0.810	0.756	0.717	0.000	-0.072	0.756
TB_MS_06	200	10	10.0	0.865	0.802	0.770	0.000	-0.079	0.802
TB_MS_07	200	9	9.0	0.635	0.780	0.753	0.000	0.186	0.780
TB_MS_08	200	3	3.0	0.625	0.627	0.548	0.023	0.002	0.627
TB_MS_09	200	10	10.0	0.985	0.845	0.823	0.000	-0.166	0.845
TB_MS_10	200	7	7.0	0.960	0.822	0.795	0.000	-0.166	0.822
TB_MS_11	200	6	6.0	0.695	0.681	0.634	0.006	-0.021	0.681
Average	200.0	7.2	7.2	0.810	0.763	0.725	0.031	-0.059	0.763

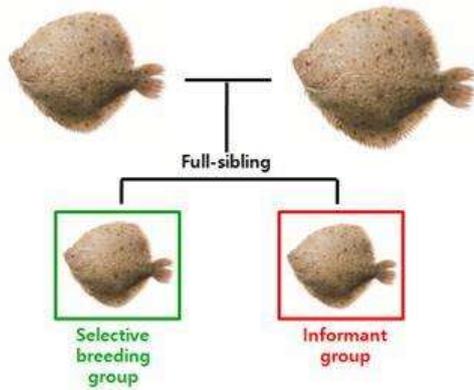
※시료 수(N), 대립유전자수(K), 집단 크기를 보정한 대립유전자수(Ar; allelic richness), 이형접합체율 관찰치(Ho; observed heterozygosity), 이형접합체율 기대치(He; expected heterozygosity), 다형성 정보지수(PIC; polymorphism information contents), probability of Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) tests (p), inbreeding coefficient (FIS), 유전자 다양성(Genetic Diversity)

- 11개의 msDNA 마커를 사용하여 돌삼다보어(F1) 200마리를 분석한 결과, 전체 k는 3~11개로 평균 7.2개이며, HOBs와 HExp의 평균값은 각각 0.810, 0.763의 수치로 확인됨
- 전체 FIS는 -0.166 ~ 0.186의 범위로 나타났으며, 평균 -0.059의 값으로 낮은 수준의 근친교배 정도를 보임. Gene diversity 또한 평균 0.763으로 높은 유전적 다양성을 유지하고 있는 것으로 분석되었음

#### 4. 육종핵집단의 유전 육종 방안 및 informant 그룹 확립

##### 가. 돌삼다보어 유전 육종의 이론적 배경

- 육종하고자 하는 타깃 형질에 따라서 육종핵집단에서 직접 유전변수를 계산할 수가 없을 경우가 많음
- 육종핵집단을 대상으로 한 형질들의 평가는 물고기를 죽이지 않고 관찰하거나 측정할 수 있는 형질들은 비교적 쉽게 할 수 있지만, 극한 환경에 노출하거나 해부해야 하는 형질들의 평가는 육종핵집단을 직접 사용할 수 없음
- 유전적인 배경이 같은 물고기들을 이용하여 실험이나 평가하는 그룹을 informant 그룹이라고 함. 따라서 일반적인 형질(체중, 체장, 기형유무) 외에 질병(VHSV, 스쿠티카 등) 내성이나 물고기의 생존에 위협을 주는 형질의 평가는 특별하게 준비된 그룹에서 진행되어야 함
- 예를 들면, 회수율이나 특정 내병성 같은 경우에는 대상 물고기를 반드시 죽여야만 할 경우가 있기 때문에 중요한 육종 선발 형질들의 유전력이나 육종가는 유전정보집단(informants group)을 이용해야 함
- 유전정보집단(informants group)은 반드시 육종핵집단과 full-sib(동일한 가계)이 되어야만 하고 유전자 마커를 이용한 가계도 재구성이 가능해야 함
- 최소 5 ~ 10마리씩 별도로 구성하고 이 가계들은 육종핵집단과 동일한 환경에서 관리가 이루어져야 하며 이를 이용하여 선발 형질에 대한 유전력이나 육종가, 질병 관련 실험 등에 대한 연구가 가능함
- 최종적으로 형질 평가가 끝나면 분자 마커에 의하여 각 가계의 재구성이 이루어져 같은 가계의 full-sib 들과 같은 정보원으로 이용됨
- 상기 이론적 배경을 바탕으로 꼬리지느러미 조직을 이용한 유전형 분석 및 full-sib 관계 분석하여 LOD Score가 최소 100 이상(99%)이 되는 것을 선발하고 유전정보집단으로 이용하여 여러 실험 및 연구 결과를 도출하였음



Full-sib		Half-sib		1가계당 1리 생산	
offspring	Sex	offspring	Sex	offspring	Sex
1548	♂	2272	♂	2347	♀
1549	♀	2273	♂	2348	♀
1550	♀	2274	♂	2349	♀
1551	♀	2275	♂	2350	♀
1552	♀	2276	♂	2351	♀
1553	♀	2277	♂	2352	♀
1554	♀	2278	♂	2353	♀
1555	♀	2279	♂	2354	♀
1556	♀	2280	♂	2355	♀
1557	♀	2281	♂	2356	♀
1558	♀	2282	♂	2357	♀
1559	♀	2283	♂	2358	♀
1560	♀	2284	♂	2359	♀
1561	♀	2285	♂	2360	♀
1562	♀	2286	♂	2361	♀
1563	♀	2287	♂	2362	♀
1564	♀	2288	♂	2363	♀
1565	♀	2289	♂	2364	♀
1566	♀	2290	♂	2365	♀
1567	♀	2291	♂	2366	♀
1568	♀	2292	♂	2367	♀
1569	♀	2293	♂	2368	♀
1570	♀	2294	♂	2369	♀
1571	♀	2295	♂	2370	♀
1572	♀	2296	♂	2371	♀
1573	♀	2297	♂	2372	♀
1574	♀	2298	♂	2373	♀
1575	♀	2299	♂	2374	♀
1576	♀	2300	♂	2375	♀
1577	♀	2301	♂	2376	♀
1578	♀	2302	♂	2377	♀
1579	♀	2303	♂	2378	♀
1580	♀	2304	♂	2379	♀
1581	♀	2305	♂	2380	♀
1582	♀	2306	♂	2381	♀
1583	♀	2307	♂	2382	♀
1584	♀	2308	♂	2383	♀
1585	♀	2309	♂	2384	♀
1586	♀	2310	♂	2385	♀
1587	♀	2311	♂	2386	♀
1588	♀	2312	♂	2387	♀
1589	♀	2313	♂	2388	♀
1590	♀	2314	♂	2389	♀
1591	♀	2315	♂	2390	♀
1592	♀	2316	♂	2391	♀
1593	♀	2317	♂	2392	♀
1594	♀	2318	♂	2393	♀
1595	♀	2319	♂	2394	♀
1596	♀	2320	♂	2395	♀
1597	♀	2321	♂	2396	♀
1598	♀	2322	♂	2397	♀
1599	♀	2323	♂	2398	♀
1600	♀	2324	♂	2399	♀

그림 67. 선발된 육종핵집단, informant group 모식도

나. 중요 경제성 증대를 위한 육종형질 평가

- 일반적으로 양식 현장에서 요구하는 형질은 성장률과 생존율, 질병 내성, 사료 효율 등 상업적 효과와 직접적으로 연관된 것임
- 그 이외의 추가 형질에 대한 평가가 필요한 경우에는 그 형질의 발현에 대한 유전적 원인과 환경적인 영향을 분석하는 과정이 필요하며 여기에는 산란율이나 부화율, 주요 질병(연쇄구균증, 비브리오증, VHS, 에드워드스증 등)에 대한 내성 같은 것이 포함될 수 있으며 이는 2세부 연구기관인 (영)해연과의 공동연구를 통해 성장 및 질병 관련 이외의 육종형질에 대한 평가를 진행함
- 일반적으로 표현형(P) = 유전형(G) + 환경요인(E)으로 표시되며 이를 다시 표현하면  $V_p = V_g + V_e$  로 표현됨. 즉 표현형질 값의 variance는 유전형질 값의 variance와 환경요인의 variance 값의 합으로 표현되는 것임
- 환경요인은 특정 형질이 나타나는 데 있어 최대한 영향이 없도록 하여 유전적 요인으로만 결정될 수 있도록 하는 것이 중요함

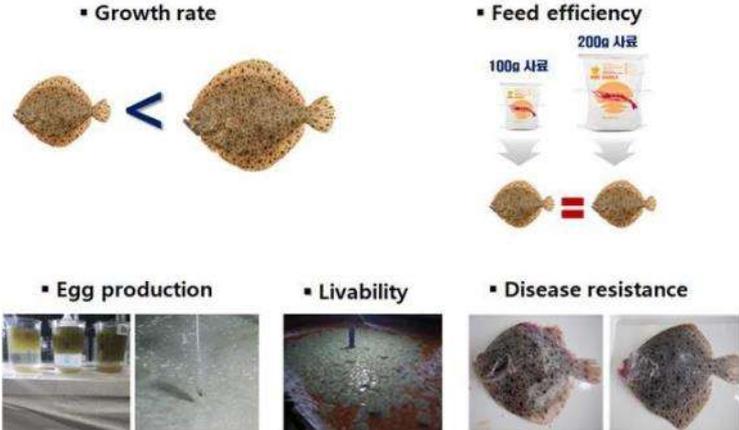


그림 68. 돌삼다보어의 주요 경제형질

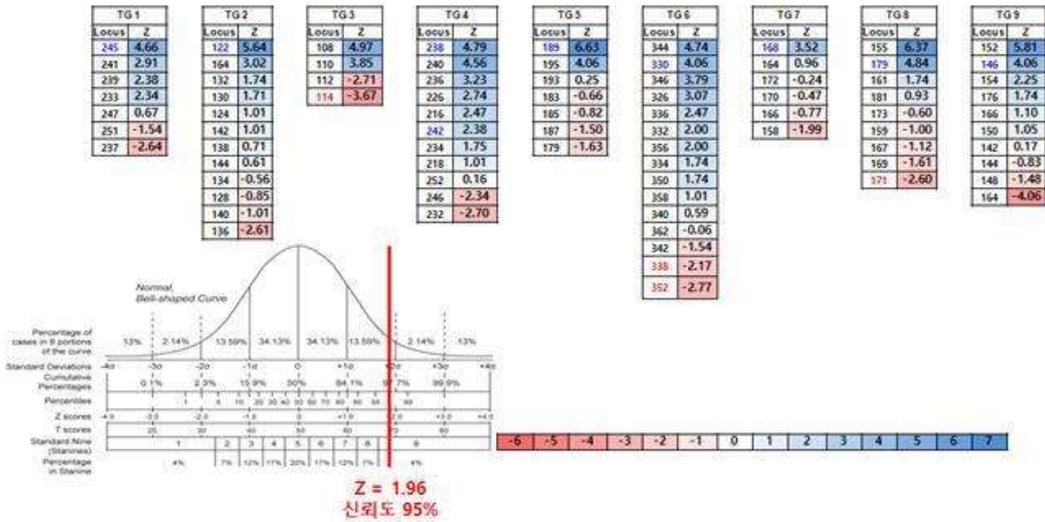


그림 69. 주요 경제형질에 관한 유전형 마커 선발 및 기준

### 다. 우수 형질 친어후보군 교배지침 작성

- 외적 형질(체고, 체장 등)이 우수한 개체의 지속적인 선발 및 유전형 분석 데이터를 이용하여 선발 형질의 유전력, 유전적 획득률 산정함
- 외적 형질이 우수한 육종핵집단 친어후보군 개체를 국내산 400마리, 프랑스산 320마리를 선발하였으며, 유전형 분석 데이터를 이용한 상기 내용을 토대로 교배지침을 작성하였음
- 교배지침 작성 시 고려사항은 다음과 같음
  - 최소 15세대 이상의 시뮬레이션 결과를 이용한 근친도 허용치를 결정
  - Optimal contribution에 의한 작성
  - 선발 형질의 유전력(Heritability) 계산 가능한 교배지침
  - 유전획득율 (Genetic gains) 계산 가능한 교배지침

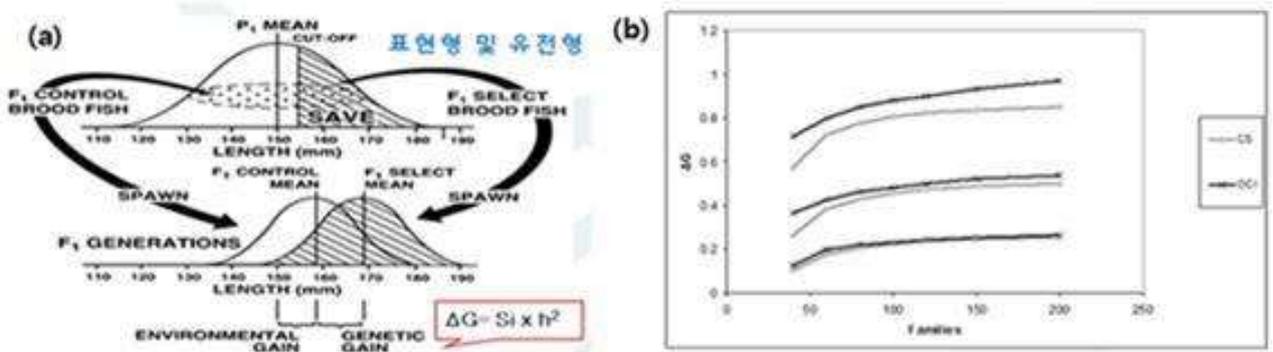


그림 70. 돌삼다보어 육종과정에 활용한 Optimal Contributions의 비교 분석

## 라. 개발된 친자확인 및 Full-sib 프로그램을 이용한 가계 확인

- Parental assignments
  - 유전자 정보를 이용하여 수행되는 친자확인은 2가지 방법을 이용하며, 하나는 Maximum Likelihood 방법이며 다른 하나는 exclusion 방법임
  - 인간을 상대로 하는 친자확인은 대부분 exclusion 방법을 사용하며, 그러한 이유는 어떤 경우에도 false positive 혹은 negative assignments가 있어서는 안 되기 때문임
  - 대부분 법적인 문제와 연결되어 있어서 법정에서 거의 100% 확실한 증거로 이용될 수 있어야 함
  - 하지만 가축이나 어류에서는 대부분 사람과 같은 용도로 친자확인을 하는 경우 보다는 육종프로그램 등에서 근친교배를 방지하기 위한 수단으로 사용되기 때문에 반드시 사람의 경우처럼 100% 확실한 친자확인이 필요한 것은 아니므로 주로 사용되는 분석방법은 maximum likelihood 방법임

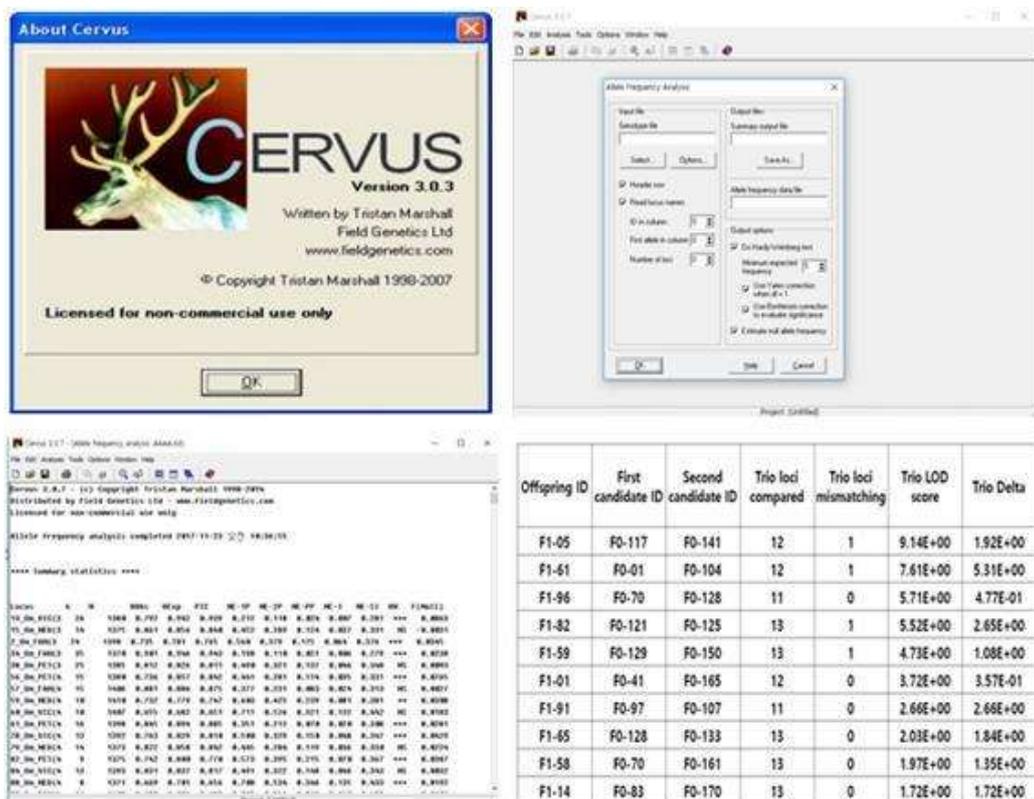


그림 71. Maximum likelihood 기반의 parentage analysis를 분석 결과

- Siblings assignments
  - 현재 수산분야에서 전형매(Full / Half sibs)가계 확인을 위해 사용되는 프로그램의 수는 많이 제한적이며, 신뢰성과 정확성도 많이 떨어지는 경향이 있음
  - 이러한 문제점들을 해결하기 위해 현재 전 세계적으로 법의학에서 사용되는 정확한 분석방법(Maximum Likelihood, exclusion 방법)인 kinship formulas & IBD 공식을 적용한 프로그램을 전형매 관계 및 가계 확인에 사용함

- 이에 대한 기본적인 분석방법은 개발된 마커를 이용하여 genotyping을 실시하고, 누적되는 data의 allele frequency(대립유전자빈도)를 계산하여 kinship formulas & IBD 공식에 적용하여 분석하는 방식임
- 이 방법을 이용하여 분석한 결과 정확한 전형매관계 확인을 위해 사용되는 Probability를 이용하여 전형매관계 성립은 95 ~ 99% 기준으로 판정함
- 본 연구에서는 부모 정보가 제공되어 친자확인법을 통한 가계를 확인함
- 상기 분석 방법은 정확한 가계의 형성을 위하여 구축한 교배지침을 알고 있는 상황에서 보다 정확한 데이터를 제공할 수 있음

• Exclusion method

- Exclusion 방법은 mendelian inheritance 법칙에 기초하며, diploid인 척추동물의 경우 (부: A/B 모: A/B) 어떤 경우에도 다음 세대 자손은 A/C가 나올 수 없음
- 이런 경우 A/C는 친자확인에서 제외되는 것임. Exclusion 방법을 사용하는 경우 한정된 부모의 수로 제한되어야 하며 보다 많은 강력한 마커가 있어야 함
- 어떠한 경우에는 genotyping error 나 mutation 등이 허용되지 않으며 이러한 조건을 만족시키는 경우 가장 강력하고 확실한 친자확인 방법이 됨

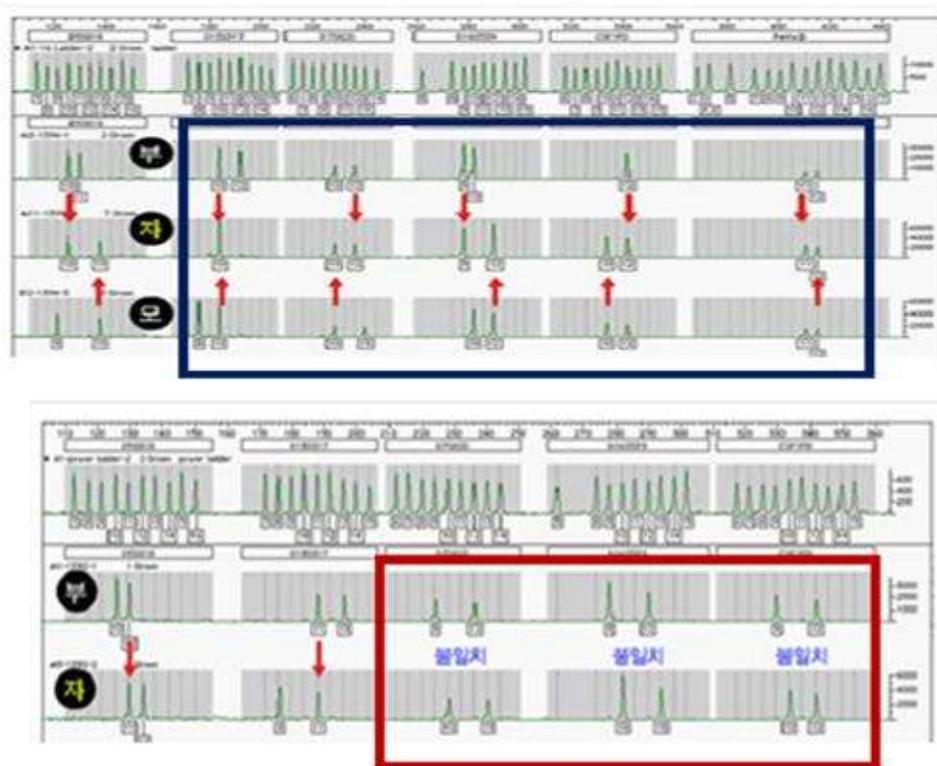


그림 72. Exclusion 분석방법을 통한 친자 관계 분석 결과

• Maximum Likelihood 방법

- Maximum Likelihood 방법은 통계적인 처리를 통하여(대부분 LOD score = loge T/P, T = transmission probability, P = frequency of offspring genotypes in the population) 가장 높은 통계적 확률을 가진 부모에게로 친자확인이 되는 방법임(Jones and Adren, 2003)

- 이것은 많은 데이터를 분석해야 하는 자연집단의 경우에 유리하며 약간의 genotyping error와 mutation 가능성도 수용 가능하기 때문에 물고기 자연집단의 친자확인 등 분석에는 더 강력한 방법이 되며 특히 부모의 수가 많거나 많은 offspring의 친자확인에는 가장 적합한 방법임

#### 마. 데이터베이스 구축

- 세대가 늘어나고 관리하는 가계가 많아지면서 축적되는 데이터의 양이 기하급수적으로 증가함에 따라 분석, 수집되는 모든 데이터를 안전하고 정확한 보관처리가 필요함
- 육종에 필요한 모든 유전형 및 표현형 데이터를 관리하는 데이터베이스 구축

#### 바. 돌삼다보어 육종핵집단 후보군 유전력 평가 및 선발

- 육종연구에서 가장 중요한 것은 육종효과를 예측할 수 있어야 하며 그 예측은 정확하게 계산되어야 하며 본 과제에는 유럽, 중국 및 국내에 있던 터봇 중에 외형이 우수한 치어 및 성어를 선별하여 친어후보군을 형성하였음
- 친어집단에서 높은 선발강도를 유지하면서 친어를 선발하여 돌삼다보어 F1세대를 생산하게 되었으며, 그 돌삼다보어 F1세대는 다시 높은 선발강도를 유지하면서 환경조성 및 성성숙을 유도하여 F2세대 돌삼다보어를 생산함
- 각 개체의 유전력을 정확하게 파악하여 육종효과를 예측할 수 있어야 하고 대부분 경우에는 각 가계에 속한 전체 개체 유전력의 평균이 각 가계의 유전력으로 표현됨
- 유전력 계산은 세대가 지나면서 세대 간의 표현형 차이로 계산하는 것이 가장 일반적이고 정확하지만, 현재 세대에서 유전력을 유추할 수 있으며 이는 환경적인 요인을 최대한 제거한 상황에서 나타나는 표현형의 변이(variance)를 계산하여 유추할 수 있음
- 하지만 보다 정확한 것은 다음 세대에서 세대 간의 변이를 계산하는 것이 가장 정확하며 당대에서 계산하는 방법은 세대기간(generation interval)이 긴 생물에 대한 유전력 계산을 빠른 시간에 유추하게 하는 장점이 있음
- 유전력은 특정 집단의 특정 형질이 환경적인 영향력 없이 유전적 영향으로만 결정되는 정도를 나타내는 것이며 간단하게는 특정 대립유전자(ex., allele a)가 체중의 100g을 증가시킨다면 aa는 200g을 증가시키는 것을 말하며 이것을 유전적인 부가효과(genetic additive effect)라고 함
- 하지만 모든 유전적인 기작이 이렇게 간단하게만 작동하지 않고 여기에는 우성(dominant)과 열성(recessive)의 개념과 유전자 간의 결합(gene-gene interaction) 등

많은 유전적 현상이 일어나면서 복잡한 과정을 거치므로 유전력의 계산은 많은 알고리즘과 학설을 종합하고 현장에서 얻은 수많은 데이터를 바탕으로 가장 합리적인 방법으로 계산되어야 함

- 일반적으로 표현형(P) = 유전형(G) + 환경요인(E)으로 표시되는데 이는 다시 표현하면  $V_p = V_g + V_e$  로 표현되며 표현 형질값의 variance는 유전 형질값의 variance와 환경요인의 variance 값의 합으로 표현되는 것임

- 본 과제에서는 가계별 환경적인 요인이 최대한 없는 조건에서 사육을 실행했기 때문에 각 가계의 정규분포의 20% 범위에서 추출한 샘플로 유전력을 다음과 같이 계산하였음

$$V_p(h^2) = \bar{X} - \left( \sum_{i=0}^{\infty} \bar{x}_d - \sum_{i=0}^{\infty} \bar{x}_r \right) / n$$

- 여기서 X는 선택형질의 평균값이고  $\chi_d$  와  $\chi_r$  는 우성과 열성 형질의 표현형을 나타내며 위의 알고리즘에 의한 각 가계의 예측된 유전력은 다시 육종가(breeding value)로 표현이 가능함

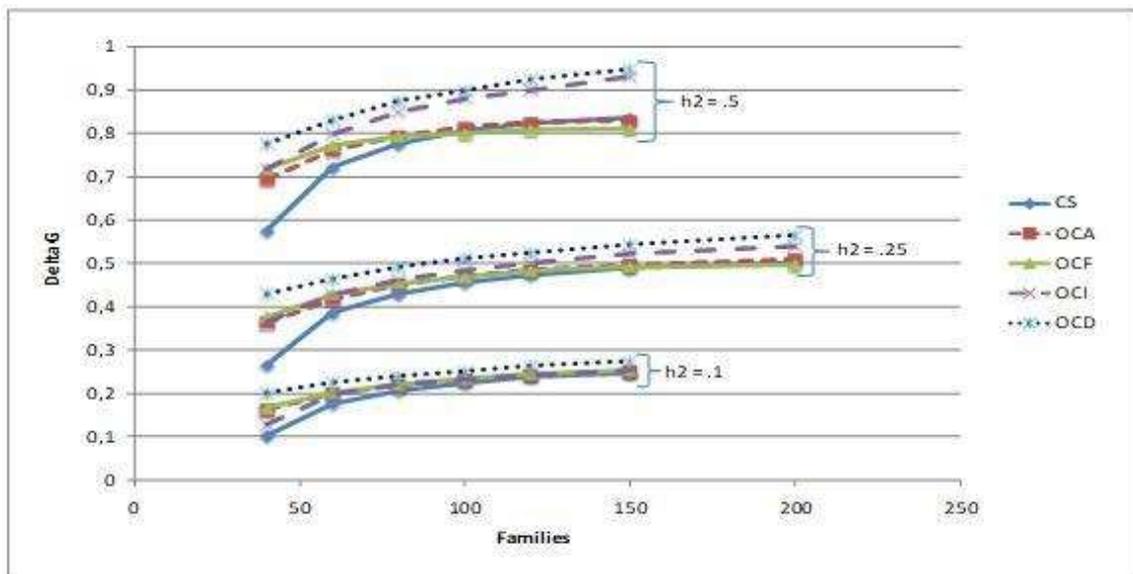


그림 73. Optimal contribution을 적용한 유전획득(genetic gain)의 추이 변화

#### 사. 가계별 환경 적응도 분석 및 선발 인덱스 작성

- 환경적응성은 공통된 환경에서 잘 적응하여 건강하고 빠른 성장을 보이는 것을 말하며 일반적인 요소로는 체중, 체장, 스트레스, 질병 검사 등이 있음
- 1단계에서 가계별 환경 적응력은 성장 속도, 고수온, VHSV 감염 등에서 지속적으로 연구 및 국내 양식 환경에서의 성장, 기형 확인, 질병검사 등을 확인하고 추가적으로 중국산 터봇과의 비교 연구를 진행하였음

- 우수한 환경 적응 표현형을 기준으로 선발된 개체에서 생산된 돌삼다보어의 경우 친자확인 분석을 통한 생산 부모 가계를 확인하였으며 확인된 개체들에 대한 성장률, 질병 내성(연쇄구균, 비브리오, 에드워드 등), 스트레스 발현 등 실험 및 결과를 통해 선발 가계들에 대한 환경 적응력을 확인하였음
- 또한, 생산에 참여한 부모 가계에 대한 환경 적응력(성장 및 외형, 질병, 기형 등)을 조사하여 아래와 같이 육종가 계산 및 선발 인덱스(우수한 가계 순위 결정)를 작성하였음
- 육종에서 다음 세대를 생산하기 위해서는 반드시 교배에 참여하는 개체들의 육종가(Breeding Values)를 알아야 하며 그 육종가와 유전적 거리에 따라서 교배지침이 마련되어 다음 세대 생산이 이루어짐
- 상기 내용에 설명한 바와 같이 육종가는 유전력과 아주 밀접한 관계가 있으며 다음과 같이 계산됨

$$EBV = h^2 P$$

- $h^2$  유전력, P는 측정된 외형 값의 변수임. 암수의 BV 값이 높은 것 순서대로 교배지침이 만들어지고 이에 따라 각각의 육종 표현 형질에 적합한 다음 세대를 생산함

## 5. 속성장 돌삼다보어 품종 개발 결과

- 2019년 생산된 F1세대 돌삼다보어와 중국 터봇의 성장률을 비교하였음. 수정란 입식 후 약 120일이 경과된 시점부터 각 개체들의 체중 차이가 나타나기 시작하였음. 약 270일경에 약 16% (약 60g)로 가장 큰 성장률 차이를 보였으며 마지막 측정일인 300일경에 13% (약 60g) 성장률의 차이를 나타내었음. 결과적으로, F1세대 돌삼다보어가 중국 터봇에 비해 입식 후 150일 경과된 시점부터 평균적으로 10 ~ 15% 정도의 속성장을 보이는 것으로 판단됨

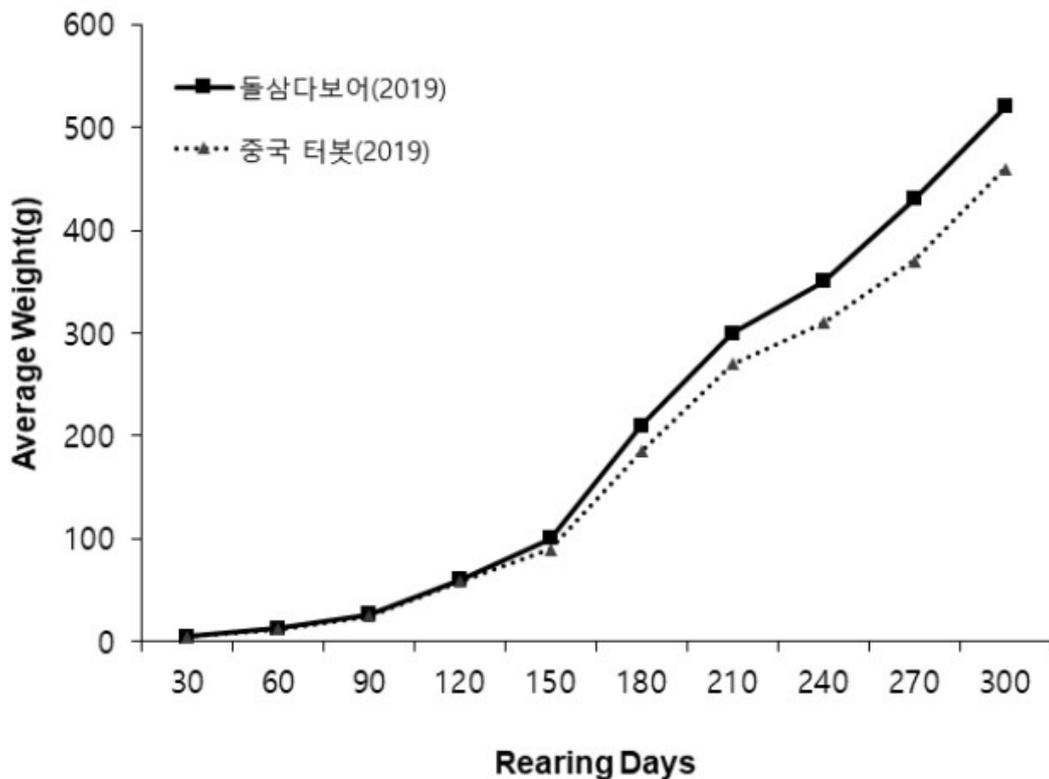


그림 74. 2019년 생산된 F1세대 돌삼다보어와 중국 터봇 종자의 성장률 비교

표.47. 2019년 생산된 돌삼다보어와 중국 터봇 종자의 평균 무게

품종	사육기간 (일)									
	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
돌삼다보어 (2019)	5± 0.245	13± 0.408	26± 0.572	60 0.816	100± 1.061	210± 0.408	300± 1.633	350± 2.450	430± 4.082	520± 3.266
중국 터봇 (2019)	5± 0.653	12± 0.408	25± 0.327	58± 0.816	90± 1.225	185± 1.061	270± 0.816	310± 1.225	370± 1.551	460± 1.633

- 2020년 생산된 F1 돌삼다보어와 중국 터봇의 성장률을 비교하였음. 성장 약 90일까지 큰 차이를 보이지 않다가 약 120일 경에 5g 정도의 차이를 보임
- 돌삼다보어와 중국 터봇 모두 150일에서 210일까지 가장 급격한 성장세를 보이며, 이 때 성장률 차이는 약 18% (약 50g)로 돌삼다보어의 성장이 중국 터봇보다 앞섬. 마지막 측정일인 입식 300일 경에는 돌삼다보어의 평균 무게는 약 516g, 중국 터봇의 평균 무게는 약 453g으로 둘의 무게 차는 63g으로 13%에 달하는 성장률 차이임

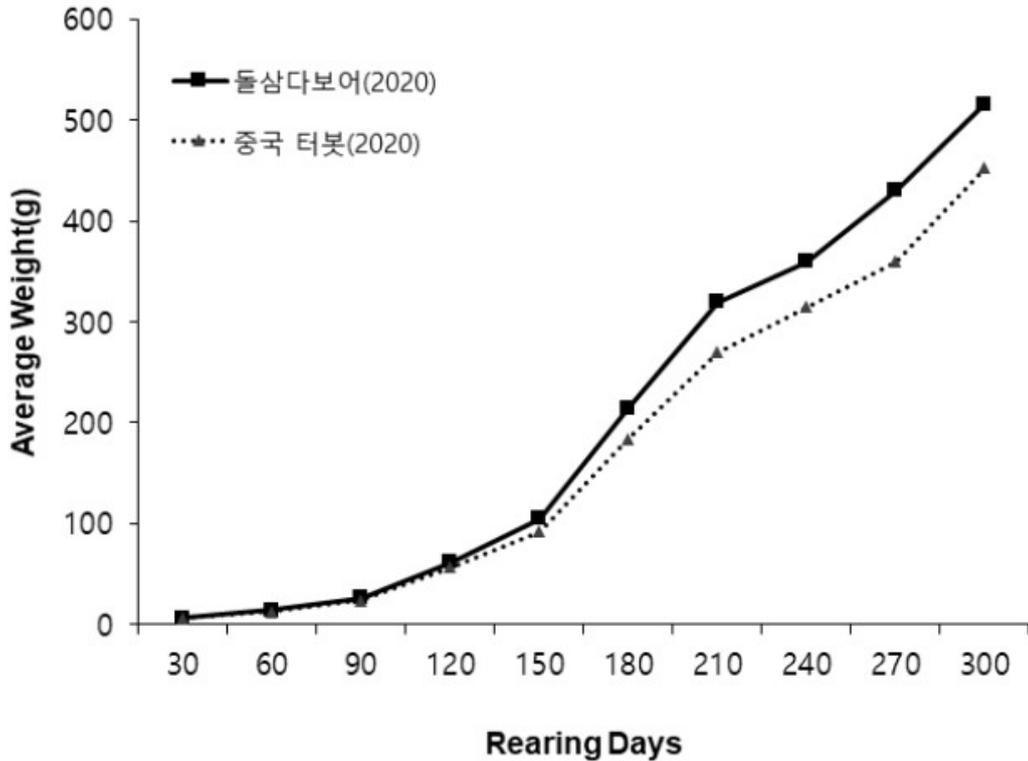


그림 75. 2020년 생산된 F1세대 돌삼다보어와 중국 터봇 종자의 성장률 비교

표 48. 2020년 생산된 돌삼다보어와 중국 터봇 종자의 평균 무게

품종	사육기간 (일)									
	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
돌삼다보어(2020)	6± 0.327	14± 0.471	26± 1.224	62± 0.326	105± 2.449	215± 0.816	320± 0.408	360± 1.224	430± 1.633	516± 0.816
중국터봇(2020)	6± 0.408	13± 0.163	24± 0.928	57± 0.816	92± 1.224	184± 1.569	270± 1.633	315± 1.087	360± 1.796	453± 0.816

- 2021년 생산된 F2세대 돌삼다보어와 중국 터봇의 성장률을 비교하였음. 약 90일이 경과한 시점부터 체중의 차이가 나타나기 시작하여 약 180일 경 F2세대 돌삼다보어의 경우 평균 210g으로 약 12% (약 27g)의 차이를 보임
- 2019년부터 2021년도까지의 돌삼다보어와 중국 터봇의 성장률을 보았을 때 약 90일 경과한 시점부터 체중의 차이가 나타나는 것으로 보여지며, 약 300일이 경과한 시점부터는 평균적으로 10 ~ 15%의 차이로 돌삼다보어의 속성장이 빠른것으로 판단됨

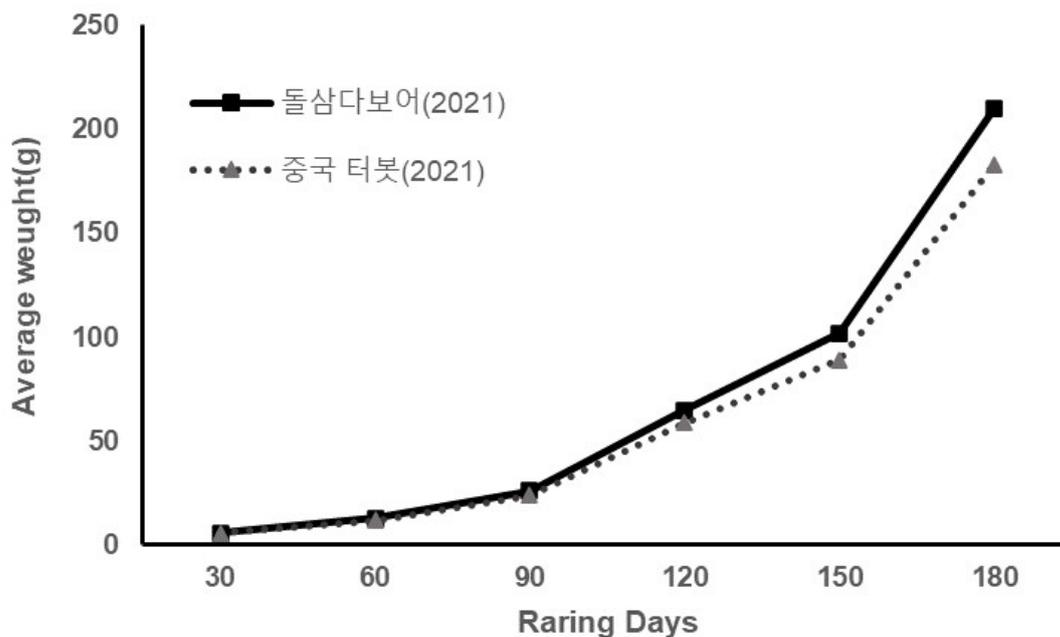


그림 76. 2021년 생산된 F2세대 돌삼다보어와 중국 터봇 종자의 성장률 비교

표 49. 2021년 생산된 돌삼다보어와 중국 터봇 종자의 평균 무게

품종	사육기간 (일)					
	30	60	90	120	150	180
돌삼다보어 (2021)	6 ± 0.32	13 ± 0.408	26 ± 0.65	65 ± 1.63	102 ± 1.30	210 ± 3.59
중국 터봇 (2021)	6 ± 0.40	12 ± 0.163	24 ± 0.90	59 ± 2.21	89 ± 1.79	183 ± 0.16

## 6. 돌삼다보어 고수온 내성 품종 개발 결과

### 가. 돌삼다보어의 고수온 환경에 대한 내성 품종 개발 필요성

- 해양에서 수온의 증가는 어류의 초기 생활사 및 주기, 종의 분포 지역, 수심 등에 영향을 미친다고 알려져 있음(Doney et al., 2012; Brierley and Kingsford, 2009; Perry et al., 2005). 어류에 있어서 생활사 초기의 생존과 성장은 자원의 가입 수준을 결정하는 중요한 요인으로 알려져 있음(Houde, 1987)
- 터봇은 유럽어종으로 비교적 수온변화가 많고 고수온인 한국의 환경에 적응하는 것이 중요하며 특히 여름의 고수온에 적응하지 못하면 양성이 원활하지 못하게 되어 경제적 가치가 떨어짐
- 현재 제주에서는 지하해수로 양성을 하는 관계로 여름철 고수온 영향이 적으므로 고수온에 대한 환경 적응력은 중국 현지 양식장의 돌삼다보어 F1세대 및 중국 터봇을 비교 분석함

### 나. 고수온 스트레스 내성 비교 분석

- HSP 90 (heat shock protein 90)은 생물이 갑자기 온도가 올라가는 스트레스에 반응하여 합성하는 단백질로 높은 온도에서 생물의 생존과 관계가 있음. 본 실험에서는 중국 터봇 및 돌삼다보어를 사육 적정 수온과 고수온에 놓아둔 뒤, 간 조직으로부터 HSP 90 유전자의 발현 정도를 상대정량 하여 비교하였음
- 그 결과 적정 사육 수온에서의 중국 터봇 및 돌삼다보어는 HSP90 발현량의 유의한 차이가 없었음
- 중국 터봇 및 돌삼다보어의 HSP90 상대적 발현량이 모두 1.0 이하로 적정 수온 사육 환경에서 스트레스 관련 유전자가 거의 발현되지 않은 것을 확인할 수 있었음

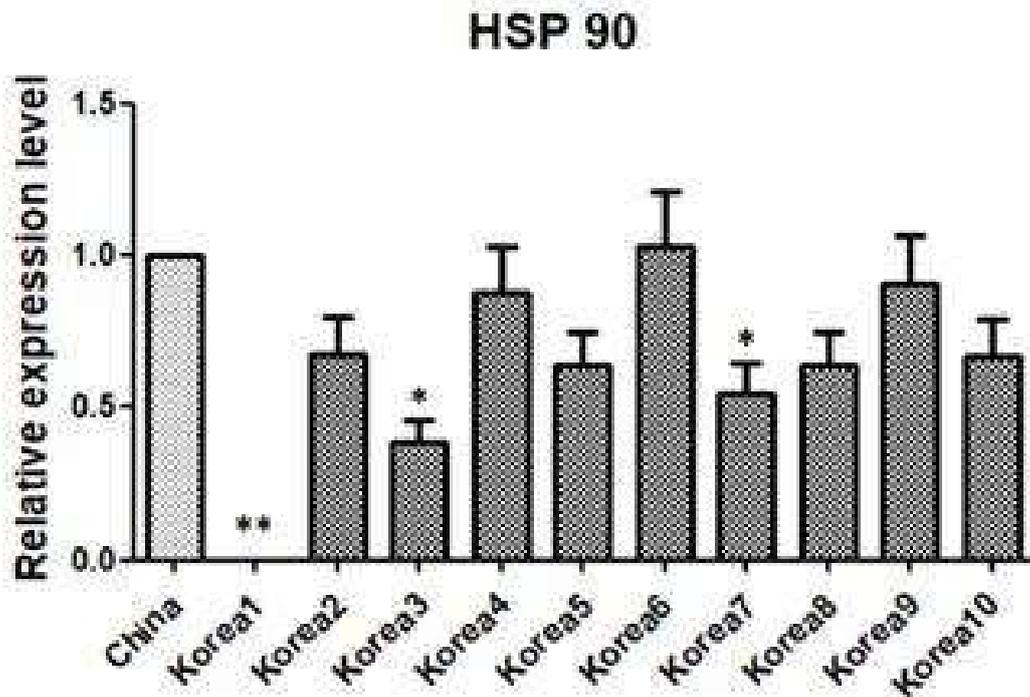


그림 77. 티벳의 적정 사육 수온에서의 중국 티벳과 돌삼다보어에 대한 스트레스 유전자 상대적 발현량 비교

- 고수온 스트레스 상황에서 돌삼다보어(F1) 1,2,9,10번 개체를 제외한 나머지 6개 개체는 중국 티벳에 비해 평균적으로 낮은 HSP90의 발현량을 보임
- 특히 6, 7, 8번 개체가 낮은 HSP90 발현량을 보였음. 통계적 유의성검증 결과에서도 돌삼다보어(F1)가 중국 티벳에 비해 스트레스에 내성이 강한 것으로 나타났음(T-test,  $p < 0.05$ )

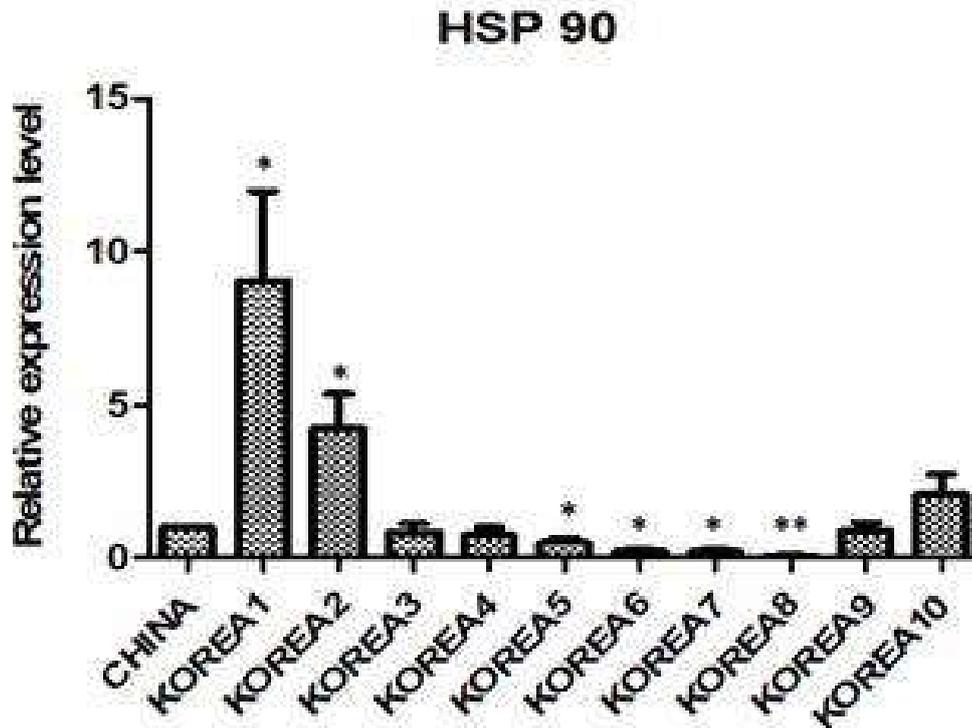


그림 78. 고수온 환경에서의 중국 터벗과 돌삼다보어 품종에 대한 스트레스 유전자 상대적 발현량 비교

- 스트레스 유전자인 HSP90의 발현량 분석 및 조사가 생육 과정에 전체적인 부분을 차지하지는 않지만, 스트레스가 발생하는 경우 면역체계 및 성장과 질병 내성 등에 연쇄적으로 부정적인 영향을 주기 때문에 터벗 사육에 있어서 스트레스 발현 연구는 어류의 성장환경을 파악하는데 필요한 연구 중 하나임. 따라서 본 연구에서의 스트레스 유전자에 대한 발현 실험은 사육 환경에 대한 적응 정도, 성장률, 건강도 등에 대한 간접적인 지표로 이용될 수 있음
- 본 연구 결과를 이용하여 스트레스 발현이 낮은 개체들에 대한 선발 및 유전형 분석을 통해 특정 유전형 선발이 가능할 것으로 예상되며, 우수한 돌삼다보어(F1)에 대한 체계적인 관리 및 유지를 위해 지속적인 유전적 다양성 관리 및 유전자원 수집으로 다양성을 유지하고 추가로 경제, 상업 형질에 대한 선발 마커 및 유전형 확인 등과 관련된 연구가 필요할 것으로 사료됨

## 7. 병원성 미생물 내성 품종 개발

### 가. 돌삼다보어 병원성 미생물 저항성 품종 개발의 필요성 및 연구 배경

- 새로운 양식품종의 기술개발에 있어서 양식 환경에 적합한 질병 관리가 무엇보다 중요함. 국내에서의 터봇 질병 연구는 바이러스성 질병, 세균성 질병 및 여윌증상을 발생시키는 점액포자충에 대한 연구가 이루어졌음(Kim et al., 2005; Sekiya et al., 2016). 그러나 터봇을 중점적으로 한 연구가 아닌 양식 저서 어종의 질병 연구 중 한 어종의 사례로 터봇을 중심으로 진행한 질병 연구는 미비함
- 내병성 터봇 개발을 위해서는 국내 양식 환경에서 터봇에 감염되는 질병의 증상 및 발병 양상 연구가 수행되어야 함
- 터봇에 심각한 피해를 줄 수 있는 주요 병원체는 아래와 같음
  - *Streptococcus parauberis* : 운동성이 없는 그람양성균이며 1993년에 터봇에서 발생이 보고되었음((Domeenech et al., 1996). *S. parauberis*에 감염된 병어는 체색 흑화, 무안축 발적 증상, 피부 궤양, 지느러미 출혈, 안구백탁 및 탈장 등의 외부 증상이 나타남
  - *Streptococcus iniae* : 우리나라의 양식 넙치의 연쇄구균병의 대부분의 원인 미생물로, *S. iniae*는 복부팽만, 복수저류증상, 탈장 등의 병리학적 증상을 나타냄 (김현정 et al., 2005, 정용욱 et al., 2006)
  - *Vibrio harveyi* : 다양한 어종에 감염되지만 주로 양식 넙치 및 조피볼락에 감염된다고 알려짐(Won et al., 2006). 감염된 어류는 복부팽만, 장 출혈, 장액삼출 및 간 출혈 등을 일으키며 특히 여름철 고수온기에 많이 감염됨. Ortigosa et al. (1994)에 의하면, *V. harveyi*는 다른 *Vibrio* spp.와 같이 광염성으로 0.5 ~ 7%에서 성장 가능하며, 균주에 따라 8%에서도 성장할 수 있는 것으로 알려져 있음
- *Edwardsiella tarda* : 어류뿐 아니라 물을 매개로 함께 하는 다양한 생물들의 질병에 관여하고 있음(Davies et al., 2018). *E. tarda* 감염 시 주둥이 출혈, 간 출혈, 복부팽만, 장기 결절 등의 증상이 발생함((Kubota et al., 1981)

### 나. 분리 배양 및 Positive control 제작

- 1.5% NaCl-BHIA와 SS agar(BD)에 *S. parauberis*, *S. iniae*, *E. tarda*, *V. harveyi*을 분리 배양하여 genomic DNA를 추출하였음
- 각각의 균을 동정할 수 있는 specific primer를 이용하여 PCR을 진행한 후 제작된 positive control을 이용하여 1.5% agarose gel에 전기영동 결과를 확인하였음

- 증폭된 PCR 산물의 염기서열을 분석한 결과, *S. parauberis*(CP025420)와 100%, *S. iniae* (CP024843) *E. tarda*(LC127084)와 99% 상동성을 보였으며 본 결과에 대한 DNA 및 샘플은 개체의 질병 발병 여부를 확인할 수 있는 positive control로 사용 가능함

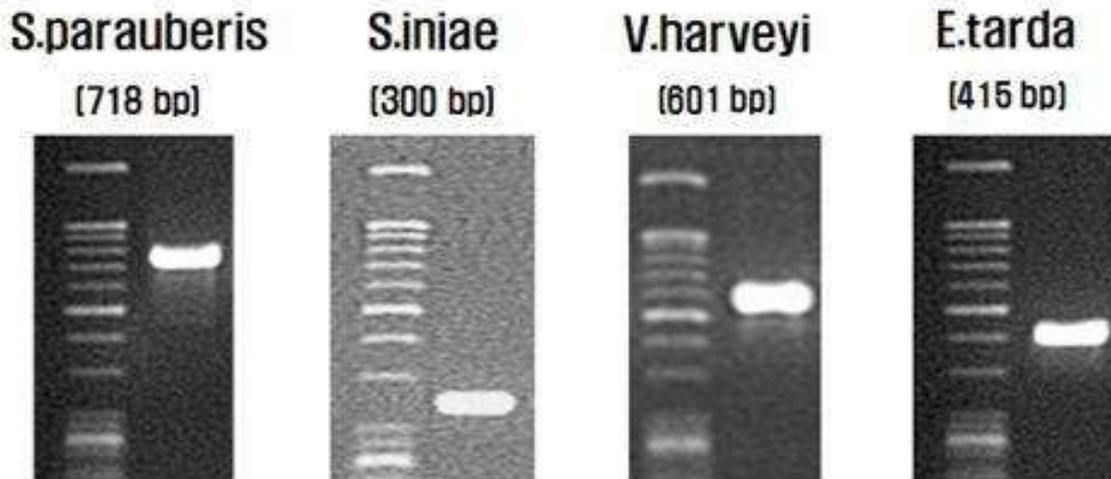


그림 79. 연쇄구균, 에드워드, 비브리오 질병에 대한 Positive control 제작 과정

#### 다. 질병 개체 PCR 및 sequencing 중동정

- 돌삼다보어(F1) 및 중국 터봇에 대한 질병 검사 및 비교 분석을 위해 각 10마리씩 두신, 아가미, 혈액 시료를 채취하였음
- 본 연구에서는 돌삼다보어(F1)와 중국 터봇에 대한 두신, 아가미, 꼬리 조직 및 혈액 샘플 등을 확보하고 DNA, RNA 추출을 하였으며 주요 질병인 연쇄구균 2종(*S. parauberis*, *S. iniae*), 비브리오 1종(*V. harveyi*)에 대한 개발 primer를 이용하여 PCR을 진행하여 1.5% agarose gel에 전기 영동하여 target size의 밴드 결과를 확인하였음
- 증폭된 PCR 산물에 대한 정확한 동정을 위해 band elution 및 sequencing을 통한 NCBI Blast 분석하여 동종일치 여부를 확인하였으며 결과는 아래와 같음
  - *S. parauberis*는 NCBI database상의 CP025420와 99% 상동성을 보였음
  - *S. iniae*는 NCBI database상의 CP024843와 99% 상동성을 보였음
  - *V. harveyi*는 NCBI database상의 CP014038와 99% 상동성을 보였음
  - *E. tarda*는 NCBI database상의 LC127084와 99% 상동성을 보였음

라. 국내 양식장에서의 돌삼다보어(F1) 및 중국 터봇에 대한 질병 검사(분자유전학적 분석)

- 질병 검사를 위해 제작된 연쇄구균 2종(*S. parauberis*, *S. iniae*), 비브리오 1종(*V. harveyi*) 검출 마커를 이용하여 PCR 과정을 진행함
- 연쇄구균 2종(*S. parauberis*, *S. iniae*)의 경우 돌삼다보어(F1)의 두신에서 검출 되지 않았으나 중국 터봇의 두신에서는 검출이 되었음
- 비브리오 1종(*V. harveyi*)의 경우는 돌삼다보어(F1)와 중국 터봇 모두에서 검출이 되었으나 돌삼다보어(F1)에서 검출된 밴드는 희미하게 확인됨
- 이후에는 좀 더 정확한 질병 검사를 위해 정성적인 분석(PCR법)뿐만 아니라 정량적인 분석법(Real-Time PCR) 및 마커를 개발하여 진단할 예정이며 지속적인 모니터링과 확인을 통해 비교 데이터를 축적해 나갈 것임

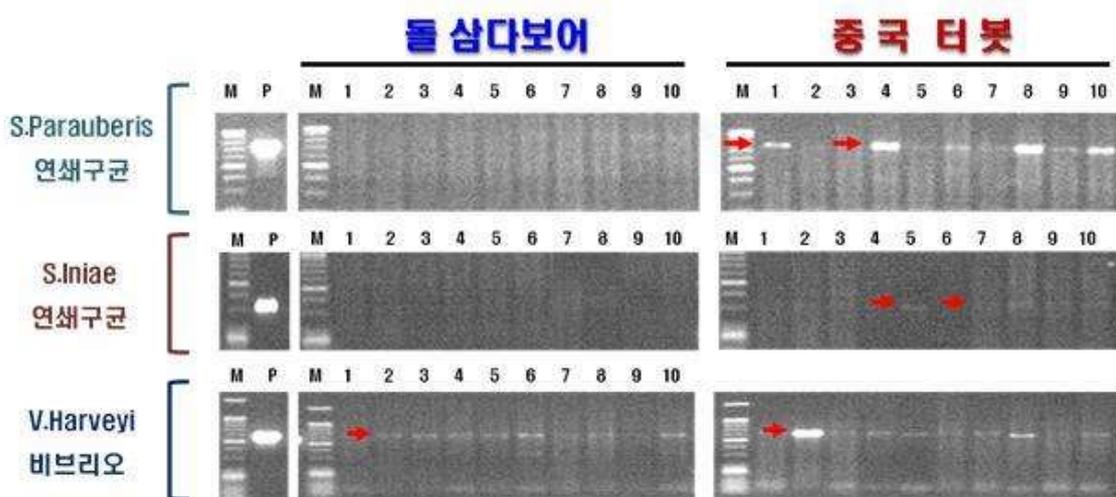


그림 80. 중국 터봇과 돌삼다보어(F1)에 대한 질병 검사 비교

마. 중국 양식장에서의 돌삼다보어(F1) 및 중국 터봇에 대한 질병 검사(분자유전학적 분석)

- 중국 양식 현장의 질병 검사를 위해 제작된 연쇄구균 2종(*S. parauberis*, *S. iniae*), 비브리오 1종(*V. harveyi*) 검출 마커를 이용하여 PCR 과정을 진행함
- 연쇄구균 2종(*S. parauberis*, *S. iniae*)의 경우 돌삼다보어(F1)와 중국 터봇에서 모두 검출이 되지 않았음
- 비브리오 1종(*V. harveyi*)의 경우는 돌삼다보어(F1)와 중국 터봇 모두에서 희미한 밴드가 보이긴 하지만 그 농도는 낮은 것으로 나타남
- 따라서 상기 내용에서도 언급하였듯이 좀 더 정확한 질병 검사를 위해 성장이 어느 정도 진행된 이후부터 정기적으로 추가 분석하고 정성적인 분석(PCR법)뿐만 아니라 정량적인 분석법(Real-Time PCR) 및 마커를 이용하여 진단할 예정이며 지속적인 모니터링과 확인을 통해 비교 데이터를 축적해 나갈 것임
- 또한, 중국 양식장에 입식된 돌삼다보어(F1) 및 중국 터봇 종자에 대한 실험 결과는 어린 종자(5cm 미만) 크기로서 현재까지는 유의적인 차이는 확인되지 않았음

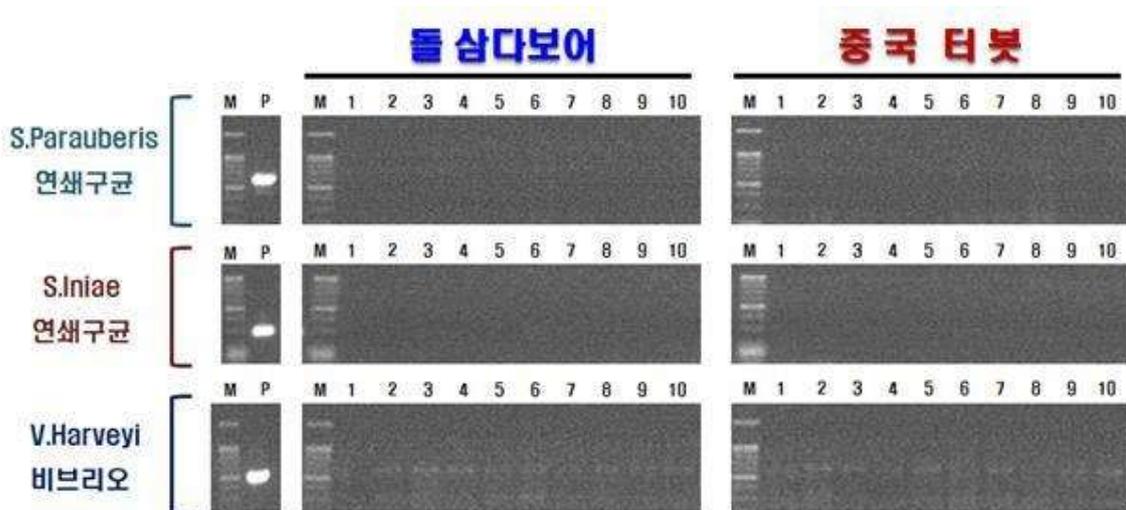


그림 81. 중국 터봇과 돌삼다보어(F1)에 대한 질병 검사 비교

## 8. VHSV 저항성 품종 개발을 위한 유전자 발현 연구

### 가. 돌삼다보어의 VHSV (Viral hemorrhagic septicemia virus) 감염 분석 연구 방법

#### (1) 돌삼다보어 준비

- 평균 무게 2.5g, VHSV-free 상태인 어린 돌삼다보어 개체를 상업적 양식장에서 구입함. 18°C 에서 빛:어둠=12시간:12시간 조건에서 2주 동안 실험실 환경에 적응시킴. 먹이는 하루에 한 번 급여함. 돌삼다보어 개체에 바이러스 유무를 확인하기 위해 reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR)을 진행함

#### (2) Primary cell 구축

- 돌삼다보어의 각 조직(brain, kidney, heart 등)을 채취하여 PBS로 2 ~ 3번 세척 후 PBS, trypsin 혼합용액 약 10  $\mu$ L를 넣고 잘게 다짐. Cell culture dish에 젤라틴을 코팅한 후 다진 조직을 2% FBS가 첨가된 MEM 배지로 배양함. 다음날 조직이 cell culture dish에 잘 부착되었는지, 그리고 조직에서 세포가 나오는지 확인하여 배지를 교체함

#### (3) VHSV 준비 및 증식

- VHSV에 감염된 양식 돌삼다보어를 구해 비장, 장, 간 등의 조직을 채취함. QIAamp Viral RNA Mini Kit를 이용하여 VHSV를 분리함. 앞서 구축한 primary cell에 VHSV를 감염시켜 바이러스를 증식시킴. 10% (v/v) FBS, 페니실린 G(150 IU/mL), 스트렙토마이신(100 mg/mL)가 첨가된 MEM 배지를 이용하였고 배양온도는  $15 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 로 설정함. 4°C, 4000 rpm, 30분간 원심분리하여 상층액을 분리하고 -80°C에 보관함

#### (4) 돌삼다보어 감염 연구

- 총 12마리의 어린 돌삼다보어 개체들을 3마리씩 4개의 그룹으로 나눔. 돌삼다보어는 50mg/ml 트리카인 메탄설폰산(MS-222; Sigma) 완충용액에 담가 마취한 후, 첫 번째 그룹은 50  $\mu$ L의 10% (v/v) FBS, 페니실린 G (150 IU/mL), 스트렙토마이신(100 mg/mL)가 첨가된 MEM 배지를 복강 내 주사하고, 나머지 세 그룹은 MEM 배지에 포함된 VHSV를  $5 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/fish 농도로 복강 내 주사함. 바이러스를 주입한 세 그룹은 각각 8시간, 24시간, 48시간 뒤 해부하여 아가미, 뇌, 근육, 심장, 신장, 비장, 간, 장 조직을 분리함. MEM 배지를 주입한 대조군 그룹도 8시간 뒤에 해부하여 조직을 분리함

#### (5) Total RNA 추출 및 cDNA 합성

- RNeasy mini kit (Qiagen, USA)를 제조사가 제공한 지침에 따라 사용하여, 12마리에서 8개씩 분리한 총 96개의 조직에서 RNA를 추출함. RNA 농도는 분광광도계 Nanodrop ND-1000 (Thermo Scientific)을 사용하여 농도와 흡광도(A260/280)를 측정함. 제조사 지침에 따라 0.5mg의 RNA를 사용하여 SuperScript II Reverse Transcriptase (Invitrogen, USA)와 oligo dT 및 random hexamer를 사용하여 cDNA 합성을 수행함. 하나의 개체에 속한 조직들로부터 합성된 cDNA 8개는 각각 1  $\mu$ L씩 섞어 혼합물을 제조함

(6) Quantitative real time PCR (qRT-PCR)

- 면역과 관련된 Toll-like receptor pathway, interferon system, apoptosis 및 cell death pathway에서 발견되는 유전자 24종에 대한 qRT-PCR을 진행함. 아무런 자극을 주지 않은 돌삼다보어를 해부하여 얻은 cDNA 혼합물을 100ng/ $\mu$ L로 희석한 뒤 다시 점차적으로 다섯 번( $10^1 \sim 10^5$ ) 희석하여, Threshold Cycle (Ct) 기울기 방법으로 증폭 효율을 계산함. Reference 유전자로는 실험적인 처리에도 영향을 받지 않는 Elongation Factor-1 alpha 유전자를 사용함. 특이적 프라이머는 Primer3 program을 사용하여 설계함. 주형으로 쓸 cDNA 혼합물은 100ng/ $\mu$ L로 희석함

- 각각의 반응은 10  $\mu$ L 2X SYBR Green qPCR master mix (Agilent), 1  $\mu$ L upstream primer (10  $\mu$ M), 1  $\mu$ L downstream primer (10  $\mu$ M), 0.3  $\mu$ L of diluted reference dye (ROX dye), 1  $\mu$ L 주형 cDNA 혼합물( $10^5$  희석), 6.7  $\mu$ L DW (Sigma-Aldrich)로 총 20  $\mu$ L 반응량으로 수행함. 모든 반응은 3 반복으로 수행되고, 초기 변성(95 $^{\circ}$ C, 3분) 1회와 변성 단계(95 $^{\circ}$ C, 5초) 1회, 혼합 신장 단계(60 $^{\circ}$ C, 10초) 40회로 Aria Mx thermocycler (Agilent)를 사용하여 진행함

나. VHSV에 감염된 돌삼다보어의 저항성 유전자 발현 분석 결과

(1) Toll-like receptor pathway

- Toll-like receptor (TLR)들과 Caspase는 VHSV 주사 후 점점 증가하거나 증가하다가 소폭 감소하는 추세를 보였음. TLR 6를 제외하고는 바이러스 주입 후 24시간째에 가장 많은 발현 양상을 보임
- I $\kappa$ B kinase beta (IKK beta)와 Mitogen-activated protein kinase (MAPK) 14의 경우 바이러스 주입 후 점점 감소하거나 감소하다가 다시 소폭 증가하는 발현 양상을 보였음.
- I $\kappa$ B kinase beta의 경우 염증에 대한 세포 반응의 전파에 관여하는 효소로서 염증으로 인해 세포사멸이 진행되었거나, 염증세포의 피드백 작용으로 인해 TLR과 다른 발현 양상을 보이는 것으로 추정할 수 있음
- MAPK는 유사 분열, 삼투 스트레스, 열 충격 및 전 염증성 사이토카인과 같은 다양한 자극에 대한 세포 반응을 유도하는 데 관여하는 효소로서 이 효소 역시 IKK beta와 유사한 이유로 바이러스 주입 후 점차 발현이 감소하는 양상을 보인 것으로 판단됨

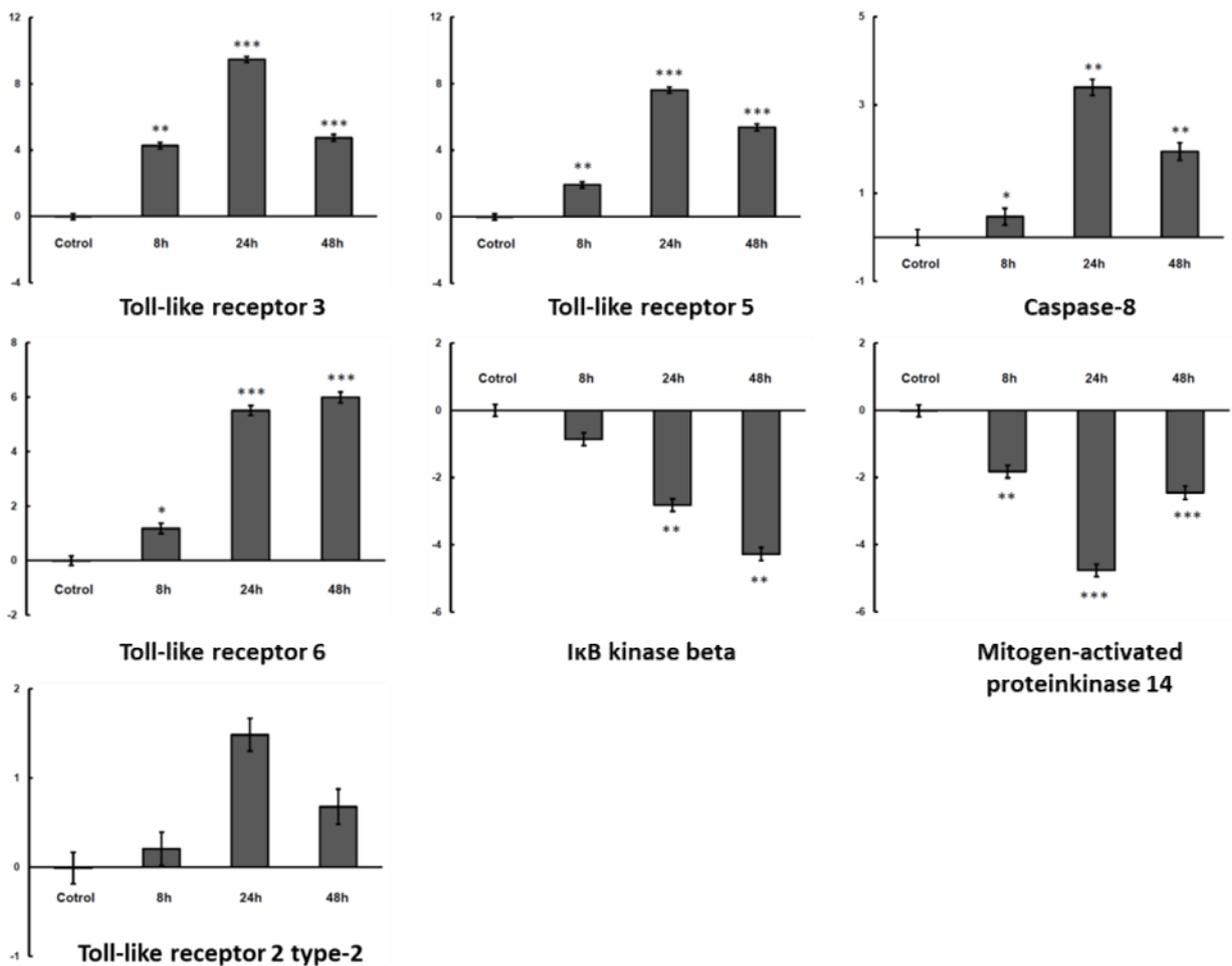


그림 82. 돌삼다보어에서 VHSV 감염에 따른 Toll-like receptor pathway 관련 유전자 발현분석

## (2) Interferon system

- Interferon regulatory factor (IRF)들과 바이러스 유도성 단백질(VHSV-induced protein, Fish virus induced TRIM protein)들은 VHSV 주사 후 점점 증가하거나 혹은 증가하였다가 소폭 감소하는 발현 양상을 보임. FADD 단백질은 FAS-associated death domain protein의 약자로, MORT1라고도 불리며, 죽음 도메인이 있어 외인성 세포자살과 관련된 작용을 함. Apoptosis(세포자살)과 연관된 작용을 하는 단백질이므로 바이러스 주입 후 시간이 경과함에 따라 발현이 증가하는 양상을 보임

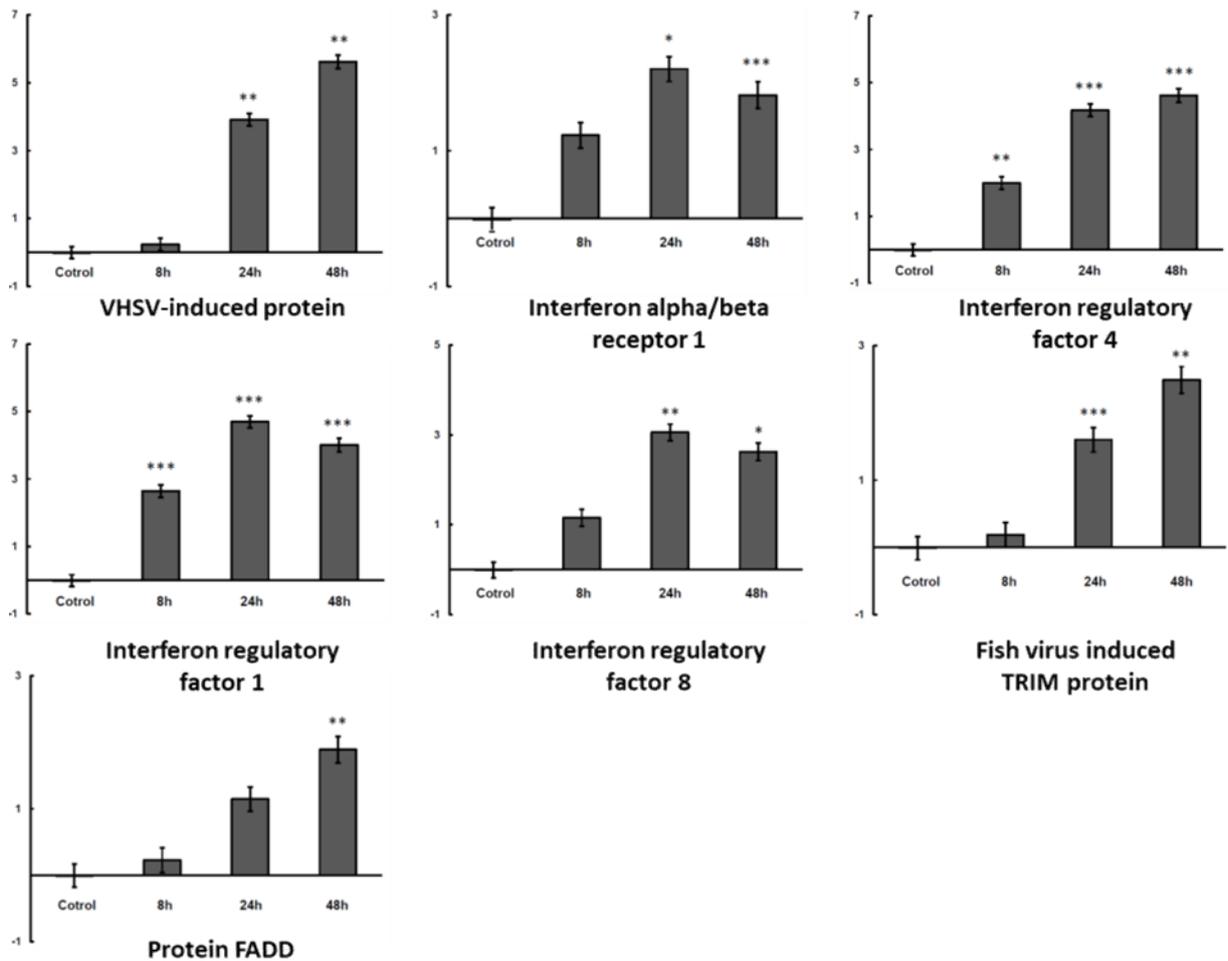


그림 83. 돌삼다보어에서 VHSV 감염에 따른 Interferon system pathway 관련 유전자 발현분석

### (3) Apoptosis 및 cell death pathway

- Cathepsin B는 Lysosomal cysteine protease 패밀리에 속하며, 세포 내 단백질 분해에 중요한 역할을 함
- 바이러스 주입으로 인해 lysosomal 손상을 입으면 Cathepsin B가 방출되어 세포사멸을 일으키며, 이 효소는 Apoptosis regulator BAX를 분해하는 역할도 가짐. 바이러스 주입 후 시간이 경과함에 따라 발현이 점차 감소하는 양상을 보임
- Tumor necrosis factor receptor type 1-associated DEATH (TRADD)는 FADD와 인접한 단백질로 TRADD 유전자는 FADD를 코딩하고 있음
- TRADD에 의해 FADD가 활성화되면서 Caspase가 활성화되어 apoptosis(세포자살)가 일어남. 피드백 작용으로 인해 48시간째에서 가장 적은 발현을 보인 것으로 추정됨
- 그 외 나머지 6개의 유전자(Interleukin-1, Caspase-3, Apoptosis inhibitor 5, Apoptosis regulator BAX, Apoptotic protease-activating factor-1, Granzyme A)들은 바이러스 주입 후 시간이 지날수록 발현량이 증가하는 양상을 보임
- 나머지 Perforin-1과 Antimicrobial peptide NK-lysin은 바이러스 주입 후 각각 8시간, 24시간까지는 감소하다가 그다음 시간대에서 급격히 발현량이 증가하는 것을 관찰할 수 있음
- 두 유전자 모두 cell death와 연관된 유전자임. Perforin은 Granzyme과 함께 세포로 들어가고 perforin에 의해 granzyme이 방출되어 Bid와 caspase를 활성화시킴. Bid는 Apoptosis regulator BAX가 되어 세포사멸에 연관된 반응을 매개함
- 따라서 Perforin, Granzyme, Apoptosis regulator BAX는 시간이 지날수록 발현이 증가하는 양상을 보이게 됨
- Antimicrobial peptide NK-lysin은 세포 내 면역시스템의 일부로 병원체 감염에 대하여 아주 중요한 역할을 함. NK-lysin은 natural killer(자연살해세포)과 Cytotoxic T cell(세포독성 T 세포)의 화합물로 바이러스 주입 후 24시간까지는 감소하다가 48시간째에 폭발적으로 증가하는 발현 양상을 보임

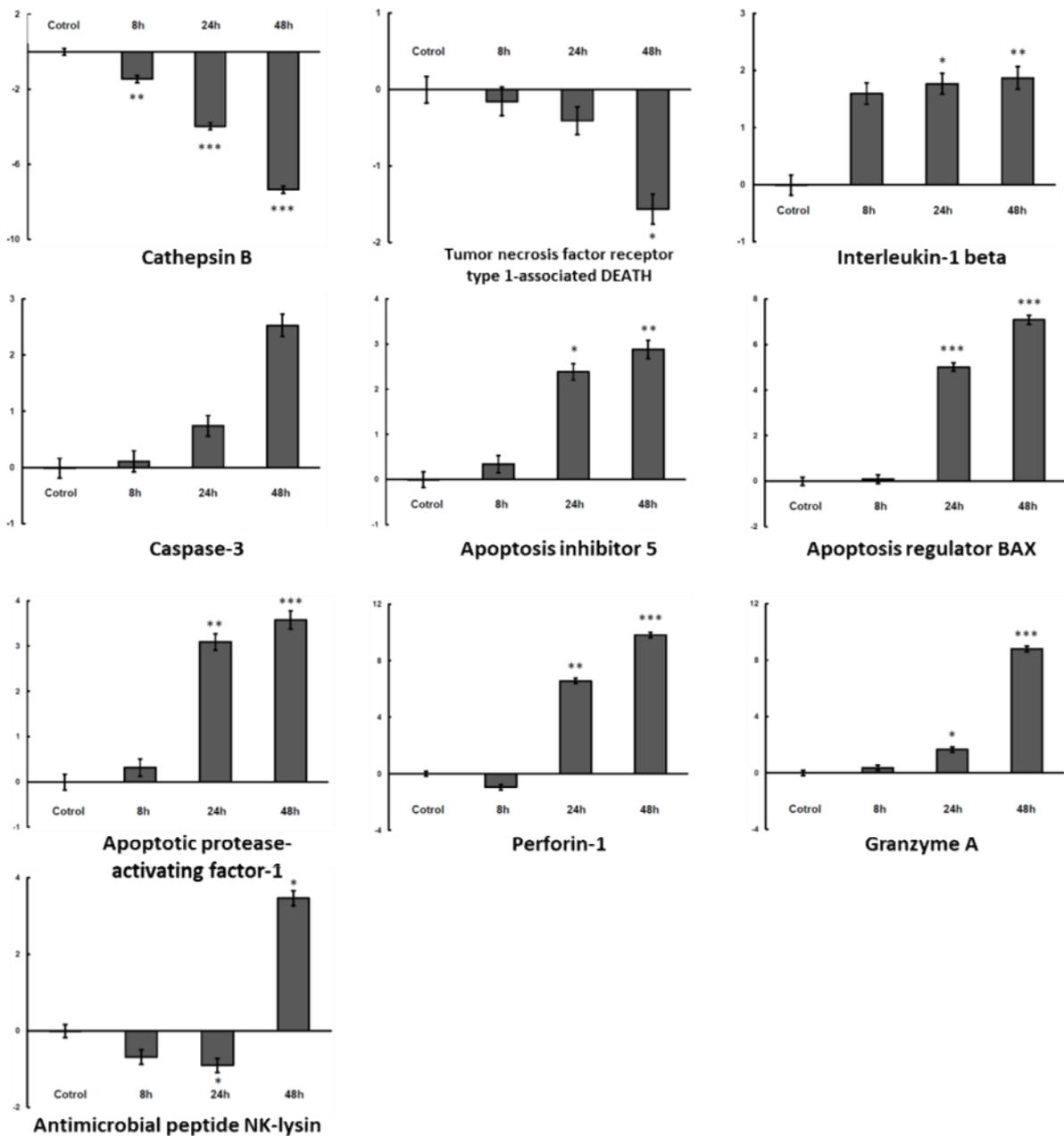


그림 84. 돌삼다보어에서 VHSV 감염에 따른 Apoptosis 및 cell death pathway 관련 유전자 발현분석

- 돌삼다보어 주요 질병에 대한 내성 유전자의 발현을 분석하기 위해 VHSV를 돌삼다보어 개체에 주사하여 주사하지 않은 대조군과 면역 반응 관련 유전자를 상대정량 하였음
- 타깃 유전자는 Toll-like receptor pathway, Interferon system, apoptosis 및 Cell death를 매개하는 유전자들로 선별하였음. Toll-like receptor pathway 연관 유전자 중에서는 Toll-like receptor 2 type-2, 3, 5, 6, Caspase-8이 VHSV 주사 후 시간이 경과함에 따라 점점 증가하거나 혹은 증가하다가 48시간째에 소폭 감소하는 양상을 보였음
- I $\kappa$ B kinase beta는 시간이 지날수록 발현이 감소하는 양상을 보였으며, Mitogen-activated protein kinase 14는 바이러스 주입 후 24시간째에 발현이 가장 감소하였다가 48시간째부터 회복하는 추세를 보였음

- Interferon system 연관 유전자 중에서는 VHSV-induced protein, Fish virus induced TRIM protein, Interferon alpha/beta receptor 1, Interferon regulatory factor 1, 4, 8, Protein FADD 총 7개의 유전자 모두 바이러스 주입 후 점차 발현이 증가하거나 혹은 48시간째에 소폭 감소하는 양상을 보였음
- Apoptosis 및 cell death pathway 연관 유전자의 경우, Cathepsin B와 Tumor necrosis factor receptor type 1-associated DEATH의 경우 VHSV 주사 후 시간이 경과하면서 점차 발현이 감소하였음
- 특히 Tumor necrosis factor receptor type 1-associated DEATH의 경우 48시간째에 폭발적으로 감소하는 것을 관찰할 수 있었음
- 그밖에 Interleukin-1 beta, Caspase-3, Apoptosis inhibitor 5, Apoptosis regulator BAX, Apoptotic protease-activating factor-1, Granzyme A는 시간이 경과하면서 점차 증가하고 48시간째에 가장 많이 발현하는 것을 관찰할 수 있었음
- Perforin-1, Antimicrobial peptide NK-lysin의 경우 각각 8시간, 24시간까지 발현량이 소폭 감소하다가 그 이후로 대폭 증가하는 양상을 보였음. 이 두 유전자에 대해서는 72시간대 실험이 추가 적으로 진행되었다면 더 정확한 발현 양상을 파악할 수 있었을 것으로 보임
  - 여러 번의 반복 실험과 면역체계와 관련된 타 유전자들에 대한 실험이 추가적으로 진행된다면 신뢰도를 더 높일 수 있을 것으로 판단됨
  - 본 실험의 자료는 내병성 돌삼다보어 분자유종기술의 기초자료로 사용되어 돌삼다보어 주요 질병인 VHSV에 대한 내병성 종자 개발에 기여할 것이라 예상됨

## 9. 돌삼다보어의 유전체육종기술 확립을 위한 SNP chip 개발

- 세계 종자 시장에서 우리나라 돌삼다보어 등 어류 종자가 우위를 차지하기 위해서는 속성장, 내병성 등 유용한 형질에 대한 빠른 육성이 요구되므로 확보한 유전체 정보의 활용이 시급함
- 본 연구의 목적은 돌삼다보어의 유전체 정보를 활용하여 속성장, 체색 및 내병성과 관련된 SNP 마커 선발 및 SNP chip 제작하고자 함
- 육종핵집단 중 외적 형질이 우수한 개체 30마리를 선별하여 해당 개체들의 지느러미를 샘플링하여 NGS 분석을 통한 유전적으로 뛰어나고 속성장 및 질병 내병성 개체를 판별할 수 있는 DNA chip 개발을 목표로 하여 실험 진행 중임
- DNA chip 제작을 위하여 전국 양식장에서 일부 샘플을 진행하였으며, 추가로 방류종과 자연산 돌삼다보어 일부도 포함하여 현재 돌삼다보어 DNA chip 제작을 위한 분석을 진행 중임



그림 85. 유전체 육종기술 적용을 위한 돌삼다보어 DNA chip 제작 모식도

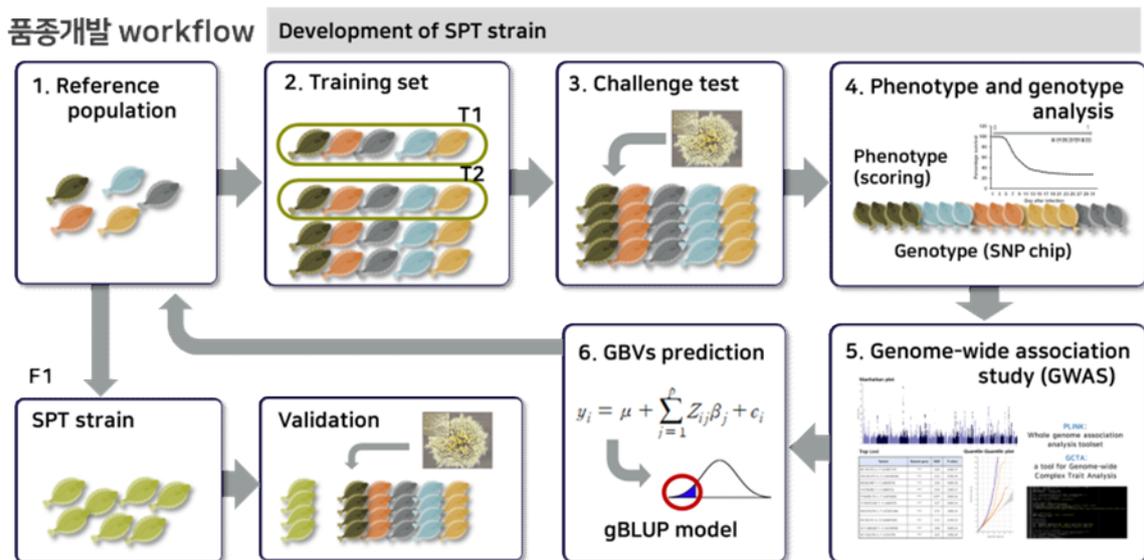


그림 86. 유전체 육종기술을 적용한 전체적인 품종개발 모식도

## 가. 돌삼다보어 SNP chip 개발을 위한 NGS 분석 방법

### (1) 돌삼다보어 샘플 확보

- (주)블루젠 양식장 내에서 사육 관리 중인 돌삼다보어 육종핵집단을 참조집단으로 활용하기 위해서 유전적 다양성을 고려하여 건강한 개체 30마리의 꼬리지느러미를 확보함
- 확보한 돌삼다보어의 꼬리지느러미를 99% 알코올에 샘플링하여 장기보관이 가능하도록 하였음

### (2) Genomic DNA 추출

- 꼬리지느러미 조직 일부를 절취하여 genomic DNA 추출 키트를 사용하여 absorbance 260/280 ratio 1.8 이상, 농도 100ng/ul 이상으로 추출하여 마커 개발과 유전형 분석에 이용하고 남은 DNA는 -80° C에 보관함
- 에탄올에 고정된 조직 일부를 자른 후 증류수로 세척하여 잘게 가위질한 후 다음 과정은 DNA 추출 kit (NEXprep™ Cell/Tissue DNA Mini Kit) 제작자가 제공한 프로토콜에 따라 진행하였음

### (3) NGS (Next-Generation Sequencing) 분석

- Raw 데이터를 생성하기 위해 Illumina 사의 HiSeq X Ten 장비를 이용하였음
- Illumina 사의 NGS 분석은 크게 cluster generation과 sequence by synthesis (SBS) 과정으로 나뉨
- Cluster generation은 Illumina flow cell 표면에서 ‘bridge amplification’ 이 반복적으로 일어나면서 진행되는데, 생성된 bridge는 변성되어 두 개의 단일 가닥으로 flow cell에 세워지고 이러한 bridge amplification이 반복되어 수천만 개의 cluster를 생성하게 됨
- Cluster가 생성되면 SBS 과정을 통해 염기서열 분석이 이루어짐. 4개의 형광 라벨링된 올리고뉴클레오티드가 핵산 사슬에 결합하면 형광 dye가 배출되고, 배출된 형광 dye의 파장과 강도를 식별하여 순서대로 분석하였음

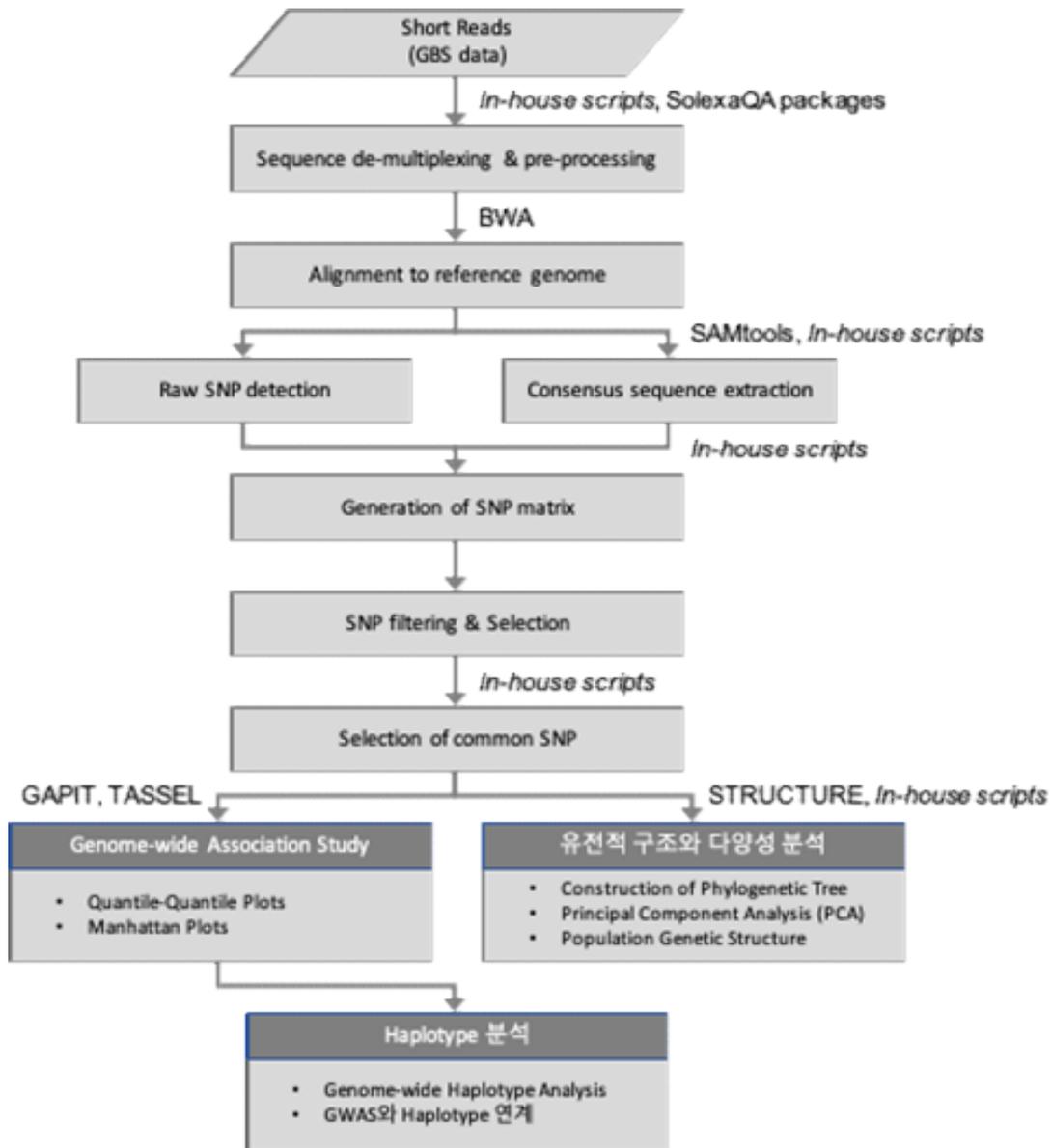


그림 87. Resequencing 기반의 Whole Genome Sequencing(WGS) 분석 모식도

#### (4) Bioinformatics 분석

- Reference genome 서열에 read alignment를 통한 raw SNP 마커 탐색
  - 품질 점검을 통해 확보한 cleaned reads를 이용하여 reference genome 서열에 BWA alignment를 수행하고 BAM 파일을 작성함(Li and Durbin, 2009)
  - BAM 파일을 기반으로 alignment 과정에서 다음과 같은 기준으로 품질 점검을 실시함. 이를 통해 분석의 적합성 및 정확성을 확인함
  - 전체 생산된 데이터 대비 mapping rate의 정도, IGV를 통해 mapping된 영역에 대한 alignment pattern 확인
  - 전장 유전체를 기반으로 genome coverage 및 평균 depth의 정도 확인
  - SAMtools (Li and Durbin, 2009)를 사용하여 BAM 파일에서 alignment된 read의 depth가 충분히 높을 경우(일반적으로 > 5 depth), raw SNP을 선발함

- Mapping된 depth가 너무 낮을 경우, sequencing error이거나 missing이 될 가능성이 있으므로 이를 배제하여 분석의 정확도를 높임
- 그 외 raw SNP를 추출하기 위한 자체 개발 분석 파이프라인(Lee et al, 2014)을 이용하여 SNP validation을 수행함
- 추출된 SNP 및 InDel 이 전장 유전체 상에서 고르게 분포하는지를 확인하여 추출된 변이 정보가 효과적인지 확인함

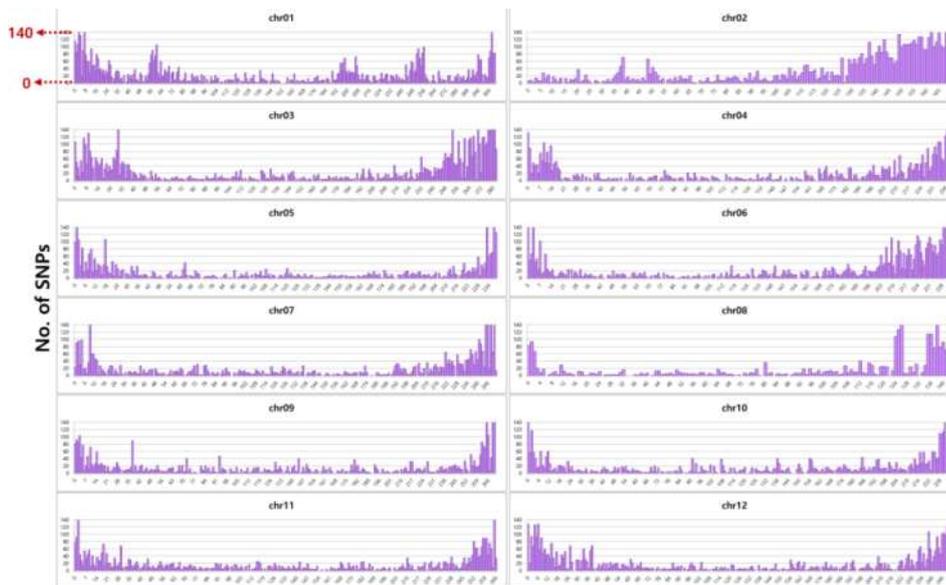


그림 88. 유전체 내 SNP 분포 분석

- SNP 후보 마커 우선순위 설정: LD, MAF, 유전체 내 위치정보 고려
- 선발된 후보 SNP 좌를 대상으로 LD block (Linkage Disequilibrium, 연결 불균형) 분석을 진행함. Haploview 프로그램을 통해 LD block 분석을 진행하고, 선발된 LD block 내의 haplotype 분석을 진행함(Barrett et al, 2005)

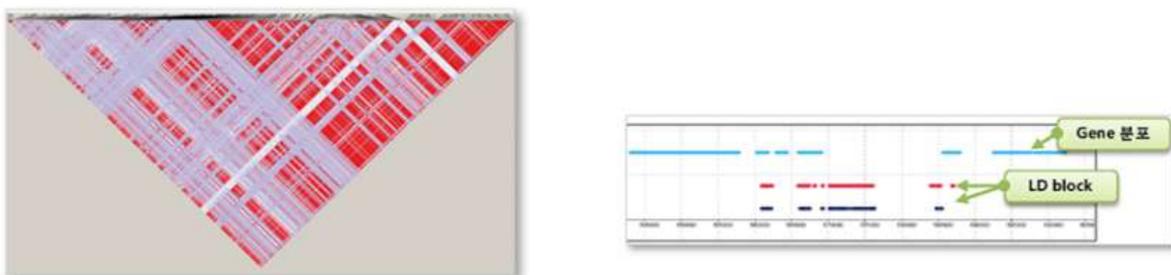


그림 89. LD block이 생성된 LD plot 및 유전자 분포 분석

- High quality 변이의 유전체 내 좌위 분석(CDS, UTR, intron, promoter, intergenic region)
- 돌삼다보어의 유전체 서열 내 Gene track 정보를 이용하여 SNP 좌위 분석을 수행함

- 추출된 SNP을 이용한 SNP matrix 작성
  - 분석 대상 간의 SNP 비교 분석을 수행하기 위하여 샘플 간 통합 SNP matrix를 작성함
  - 샘플 간의 SNP 비교를 통해 mis-calling된 SNP좌는 filtering하여 최종 SNP matrix를 작성함
  - 작성된 SNP matrix의 alignment 된 read의 depth를 이용하여 homozygous와 heterozygous를 구분함
  - Homozygous type : 동일한 SNP genotype이 90% 이상일 경우
  - Heterozygous type: SNP genotype이 40% 이상이거나 60% 이하인 경우
  - Homozygous와 Heterozygous를 위와 같이 설정한 이유는 시퀀싱 데이터의 특성상 sequencing error의 발생 요소를 구분하기 위함임

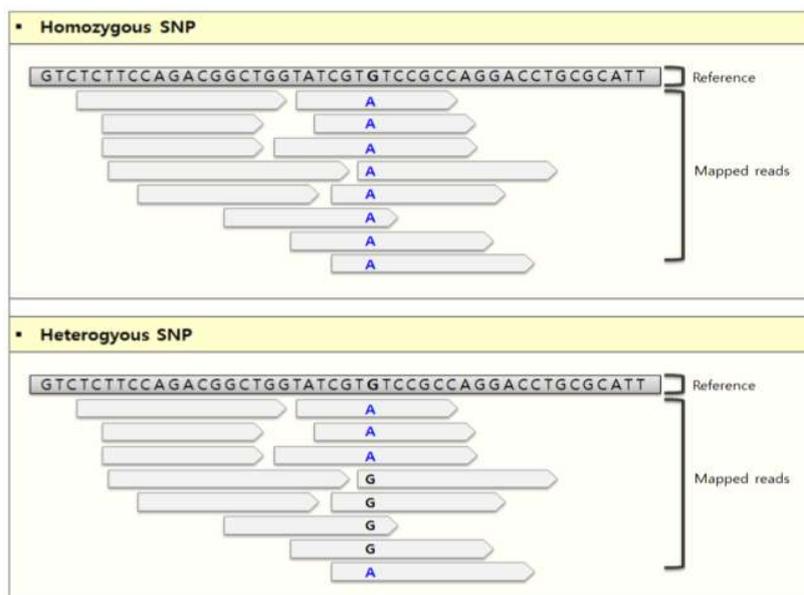


그림 90. Homozygous와 Heterozygous SNP의 차이 분석

- 최종적으로 SNP loci에서 depth, minor allele frequency, missing 정도를 확인하여 정확도 높은 SNP을 calling함
- Matrix로 구성된 SNP 정보는 genome상의 위치에 따라 exon, intron, intergenic과 같이 위치 영역을 병행 표기함
- Exon에서 발생한 SNP의 경우 synonymous SNP, non-synonymous SNP 여부를 표기함

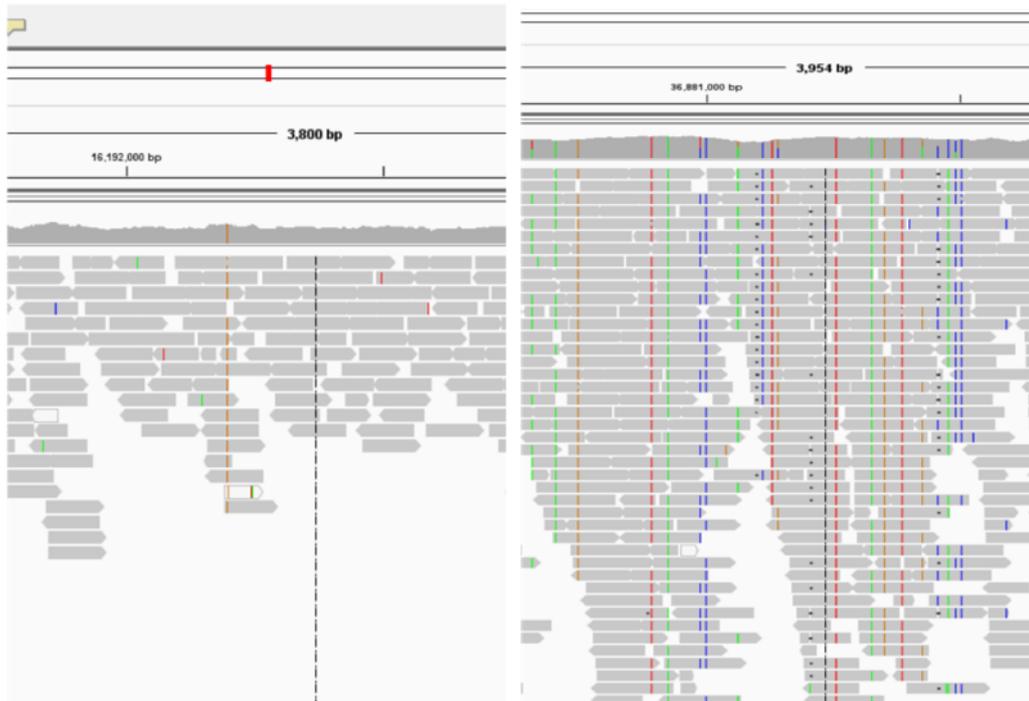


그림 91. 마커 선발 적합 locus 분석

- 최종 돌삼다보어 50k 제작을 위한 2배수 이상의 후보 변이 확보
  - 돌삼다보어에 대한 고밀도 SNP chip 개발을 위해 SNP 마커 좌를 선발 확정함
  - Genotyping rate, MAF, HWE, 관심 표현형 형질 연관 SNP 마커 선발 등 다양한 SNP filtering 기법을 통해 고순도 SNP 마커 좌를 확정함
  - LD block에 따른 haplotype marker 선발 및 게놈 전체 영역을 대상으로 고르게 분포하는 SNP 마커 좌를 선발함

표 50. SNP 생산을 위한 돌삼다보어 NGS 분석의 reads QC

Sample	Raw_reads	Clean_reads	Clean_Q20(%)	Clean_Q30(%)
Dol1	77,125,048	76,167,358	97.82	94.32
Dol2	75,996,608	75,256,424	96.02	91.16
Dol3	60,980,992	60,435,322	98.27	95.43
Dol4	60,978,368	60,273,234	97.83	94.29
Dol5	54,758,594	54,178,644	95.41	90.36
Dol6	77,125,048	75,962,064	98.09	94.94
Dol7	77,125,048	76,330,180	97.99	94.65
Dol8	77,125,048	76,275,444	97.52	93.58
Dol9	77,125,048	76,162,586	97.93	94.61
Dol10	73,466,808	72,611,370	96.09	91.35
Dol11	75,372,206	74,492,172	97.50	93.37
Dol12	77,125,048	76,272,356	97.45	93.24
Dol13	77,125,048	76,215,244	97.92	94.57
Dol14	74,873,060	73,942,288	97.86	94.45
Dol15	74,411,870	73,604,940	97.98	94.75
Dol16	73,854,500	72,932,654	95.57	90.73
Dol17	61,459,710	60,894,726	97.93	94.51
Dol18	77,125,048	76,289,762	98.12	95.00
Dol19	78,877,890	76,988,572	97.88	94.51
Dol20	73,772,174	72,943,998	95.03	89.60
Dol21	70,422,772	69,424,778	97.60	93.65
Dol22	66,278,728	65,858,630	97.35	92.96
Dol23	77,125,048	76,221,280	97.94	94.56
Dol24	58,709,914	58,136,466	95.17	89.86
Dol25	77,125,048	76,227,174	98.00	94.70
Dol26	63,688,138	62,787,356	97.88	94.43
Dol27	75,917,450	74,951,722	98.05	94.84
Dol28	58,533,876	57,934,616	95.12	89.75
Dol29	77,125,048	76,099,432	97.88	94.57
Dol30	77,125,048	76,256,536	97.87	94.36

표 51. Clean reads를 이용한 돌삼다보어 mapping

Samples	Mapping reads	Mapping rate	Mean depth	Coverage $\geq$ 20X
Dol1	66857689	97.42%	24.6068	72.47%
Dol2	70909949	97.59%	25.3253	73.58%
Dol3	77758311	97.67%	26.8897	76.26%
Dol4	75835934	97.75%	26.4935	75.38%
Dol5	76257612	97.67%	26.5996	75.07%
Dol6	77539274	97.88%	26.927	75.49%
Dol7	74865994	97.97%	26.3439	74.41%
Dol8	77372091	97.90%	26.9259	75.21%
Dol9	77451387	97.84%	26.8822	75.27%
Dol10	78397124	97.93%	27.0622	75.59%
Dol11	77445762	97.94%	26.8942	74.71%
Dol12	61345987	97.65%	23.3523	69.21%
Dol13	75213997	97.73%	26.3865	74.67%
Dol14	63863661	97.86%	23.9367	70.74%
Dol15	77570226	97.71%	26.9099	75.45%
Dol16	77497531	97.65%	26.7932	75.25%
Dol17	55025644	97.56%	22.9465	63.38%
Dol18	73827974	97.59%	26.0564	74.84%
Dol19	76457219	97.55%	26.6257	75.05%
Dol20	58814232	97.47%	22.7634	66.48%
Dol21	59011561	97.49%	22.8226	66.72%
Dol22	74026907	97.50%	26.0786	73.94%
Dol23	77690544	97.82%	26.8935	75.51%
Dol24	74093669	97.66%	26.0926	74.02%
Dol25	77643315	97.74%	26.8753	75.10%
Dol26	77568904	97.81%	26.9262	75.60%
Dol27	61491715	97.70%	23.3793	68.31%
Dol28	61921964	97.73%	23.5242	69.49%
Dol29	77604851	97.73%	26.9232	75.45%
Dol30	77258361	97.85%	26.8229	75.26%

표 52. NGS 분석을 통한 돌삼다보어 확인된 SNP의 기초 유전형 통계

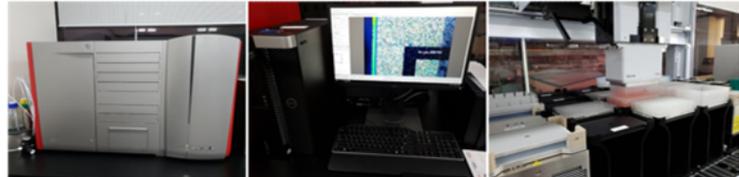
Samples	Total site	Miss site	Miss ratio	No miss site	Hom number	Het number	Hom rate(%)	Het rate(%)
Dol1	9738548	144159	1.48	9594389	7176124	2418265	73.69	24.83
Dol2	9738548	137218	1.41	9601330	7020551	2580779	72.09	26.5
Dol3	9738548	130272	1.34	9608276	7138799	2469477	73.3	25.36
Dol4	9738548	130787	1.34	9607761	7067738	2540023	72.57	26.08
Dol5	9738548	151309	1.55	9587239	7391015	2196224	75.89	22.55
Dol6	9738548	154934	1.59	9583614	7540651	2042963	77.43	20.98
Dol7	9738548	156804	1.61	9581744	7262697	2319047	74.58	23.81
Dol8	9738548	154303	1.58	9584245	7314581	2269664	75.11	23.31
Dol9	9738548	151302	1.55	9587246	7220447	2366799	74.14	24.3
Dol10	9738548	146579	1.51	9591969	7161390	2430579	73.54	24.96
Dol11	9738548	154939	1.59	9583609	7240221	2343388	74.35	24.06
Dol12	9738548	163497	1.68	9575051	7130760	2444291	73.22	25.1
Dol13	9738548	149754	1.54	9588794	7255958	2332836	74.51	23.95
Dol14	9738548	161016	1.65	9577532	7225699	2351833	74.2	24.15
Dol15	9738548	150155	1.54	9588393	7237922	2350471	74.32	24.14
Dol16	9738548	149210	1.53	9589338	7188694	2400644	73.82	24.65
Dol17	9738548	216752	2.23	9521796	7365940	2155856	75.64	22.14
Dol18	9738548	152926	1.57	9585622	7133174	2452448	73.25	25.18
Dol19	9738548	168527	1.73	9570021	7986436	1583585	82.01	16.26
Dol20	9738548	223075	2.29	9515473	8129562	1385911	83.48	14.23
Dol21	9738548	221699	2.28	9516849	8016584	1500265	82.32	15.41
Dol22	9738548	186854	1.92	9551694	7751192	1800502	79.59	18.49
Dol23	9738548	145958	1.5	9592590	7221008	2371582	74.15	24.35
Dol24	9738548	187893	1.93	9550655	7841438	1709217	80.52	17.55
Dol25	9738548	151853	1.56	9586695	7212359	2374336	74.06	24.38
Dol26	9738548	145754	1.5	9592794	7229831	2362963	74.24	24.26
Dol27	9738548	172477	1.77	9566071	7367529	2198542	75.65	22.58
Dol28	9738548	174106	1.79	9564442	7543758	2020684	77.46	20.75
Dol29	9738548	148290	1.52	9590258	7243841	2346417	74.38	24.09
Dol30	9738548	147843	1.52	9590705	7146633	2444072	73.38	25.1

- 돌삼다보어 50k SNP chip을 활용한 유전형 분석
  - 현재 개발 진행 중인 돌삼다보어 50k SNP chip은 Thermo fisher의 array 포맷으로 개발이 진행되고 있음
  - 개발이 완료됨과 동시에 속성장 형질을 타깃으로 F3세대 돌삼다보어를 활용하여 유전체 육종을 진행할 예정임

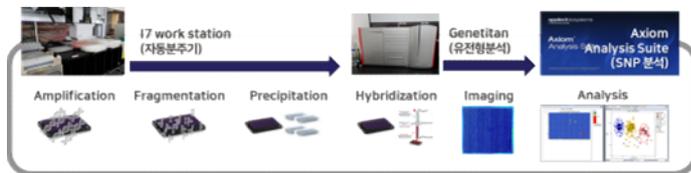
## Genotype analysis

### SNP 유전형 분석 과정

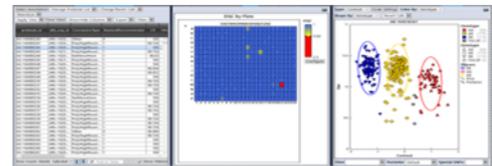
- (1) DNA Amplification
- (2) Fragmentation & Precipitation
- (3) Dry, Resuspension & QC
- (4) Denaturation & Hybridization
- (5) Ligation, Wash, Stain & Scan
- (6) Axiom Analysis Suite 분석



< GeneTitan™ 기기 및 genotyping 분석 >



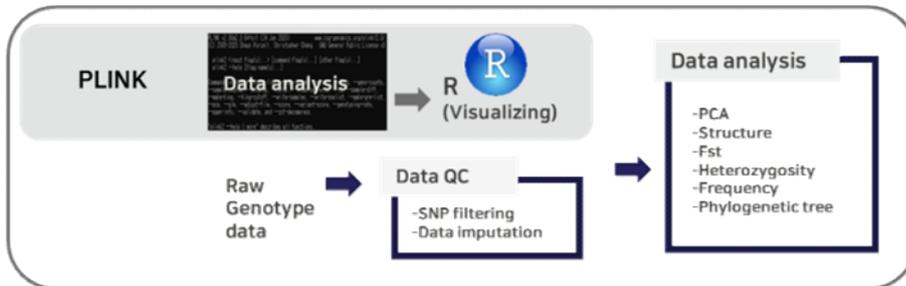
< 대용량 384 format 자동 유전형 분석 과정 >



< Axiom Analysis Suite를 이용한 유전형 분석 >

그림 92. 돌삼다보어 유전체 육종을 위한 SNP chip 분석 과정

### 집단 유전학적 구조분석을 통한 집단별 유전적 차이 분석



### 세대 사이의 유전형 분석 결과를 기반으로 친자확인 검증



### GWAS 분석을 통한 관심 표현형 형질의 연관 SNP마커 발굴

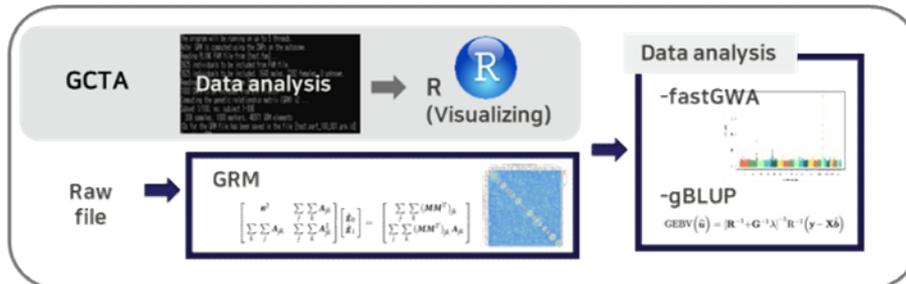


그림 93. 돌삼다보어 육종가 예측 분석 과정

## 8절. 돌삼다보어 건강종자 생산체계 확립

### 1. 건강종자 생산체계 확립을 위한 양식수 내의 해양미생물 균집분석

#### 가. 해양미생물 배양 방법을 활용한 미생물 균집 분석

- 안정적인 건강종자 생산체계를 갖추고자 양식 어종에 가장 기본이 되는 사육수에 대한 기초적인 조사를 위해 양식장의 미생물 검사를 진행하였음
- 미생물이란 생물의 성장과 밀접한 관계가 있으므로, 미생물이 없는 양식수나 유해한 미생물이 존재하는 양식수는 양식장의 운영에 문제가 될 수 있으며, 이에 기초적인 데이터베이스 구축을 위하여 미생물 검출 및 종 분석을 진행하여 유익균 및 유해균을 파악하고자 함
- 실험방법은 양식장에서 해수를 채취하여 해양미생물을 동정할 수 있는 고체배지(Marine broth)에  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ 까지 희석하여 도말하여 터봇 사육수 온도인 17°C와 여름철 수온 온도인 23°C에서 배양하였음



그림 94. 사육수 내 해양미생물 분석을 위한 균체 1차 배양

- 배양한 배지에서 균체의 색과 모양 등으로 구분하여 서로 다른 모양의 균체를 따로 분리하여 완전히 1종류의 균체만 남도록 2 ~ 3회 배양하여 균을 분리하였음
- 분리된 균을 배양하여 DNA를 추출 후 16S rRNA primer를 이용하여 PCR을 진행하여 sequencing을 진행하였고, sequencing을 통해 얻어진 염기서열은 NCBI 등 미생물 데이터베이스에서 blast를 통해서 균 정보를 분석하였음

Query= 080552-MA-017-1-C1AA-1-27F

Length=1575

		Score (Bits)	E Value
Sequences producing significant alignments:			
<a href="#">NR_126232.1</a>	<i>Pseudoalteromonas hodoensis</i> strain H7 16S ribosomal R...	<a href="#">2344</a>	0.0
<a href="#">NR_114186.1</a>	<i>Pseudoalteromonas atlantica</i> strain NBRC 103033 16S ri...	<a href="#">2338</a>	0.0
<a href="#">NR_114049.1</a>	<i>Pseudoalteromonas espejiana</i> strain NBRC 102222 16S ri...	<a href="#">2337</a>	0.0
<a href="#">NR_025509.1</a>	<i>Pseudoalteromonas agarivorans</i> DSM 14585 16S ribosomal...	<a href="#">2335</a>	0.0
<a href="#">NR_026218.1</a>	<i>Pseudoalteromonas atlantica</i> strain IAM 12927 16S ribo...	<a href="#">2335</a>	0.0
<a href="#">NR_113605.1</a>	<i>Pseudoalteromonas carrageenovora</i> strain NBRC 12985 16...	<a href="#">2324</a>	0.0
<a href="#">NR_028722.1</a>	<i>Pseudoalteromonas elyakovii</i> strain KMM 162 16S riboso...	<a href="#">2320</a>	0.0
<a href="#">NR_041711.1</a>	<i>Pseudoalteromonas distincta</i> strain KMM638 16S ribosom...	<a href="#">2316</a>	0.0
<a href="#">NR_029285.1</a>	<i>Pseudoalteromonas espejiana</i> strain 261 16S ribosomal ...	<a href="#">2313</a>	0.0
<a href="#">NR_025654.1</a>	<i>Pseudoalteromonas paragorgicola</i> strain KMM 3548 16S r...	<a href="#">2313</a>	0.0

>[NR\\_126232.1](#) *Pseudoalteromonas hodoensis* strain H7 16S ribosomal RNA, partial sequence  
Length=1439

Score = 2344 bits (1269), Expect = 0.0  
Identities = 1374/1420 (97%), Gaps = 26/1420 (2%)  
Strand=Plus/Plus

```
Query 18 CTACACATGCAGTCGAGCGGTAACAGAAAGTGTGCTTGTACTTTGCTGACGAGCGGCGG 77
      |||| | ||||||||||||||||||||| ||| |||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 5 CTAC-C-TGCAGTCGAGCGGTAACAGAGAGT-AGCTTGTACTTTGCTGACGAGCGGCGG 61

Query 78 ACGGGTGAGTAATGCTTGGGAACATGCCTTGAGGTGGGGGACAACAGTTGGAAACGACTG 137
      |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 62 ACGGGTGAGTAATGCTTGGGAACATGCCTTGAGGTGGGGGACAACAGTTGGAAACGACTG 121

Query 138 CTAATACCGCATAATGTCTACGGACCAAAGGGGGCTTCGGCTCTCGCCTTTAGATTGGCC 197
      |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 122 CTAATACCGCATAATGTCTACGGACCAAAGGGGGCTTCGGCTCTCGCCTTTAGATTGGCC 181

Query 198 CAAGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCAACGATCCCTAGCTGGT 257
      |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 182 CAAGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCAACGATCCCTAGCTGGT 241

Query 258 TTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAG 317
      |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 242 TTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAG 301

Query 318 CAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGA 377
      |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 302 CAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGA 361
```

그림 95. NCBI 데이터베이스를 활용한 배양 미생물의 blast 결과

**Strain identifier**

**BacDive ID:** 13787      **DOI:** 10.13145/bacdive13787.20190402.4  
**Type strain:** yes      **Designation:** R-28751  
**Culture col. no.:** DSM 25328, CCUG 55858, LMG 24367

**Sections**

Name and taxonomic classification  
Morphology and physiology  
Culture and growth conditions  
Isolation, sampling and environmental information  
Application and interaction  
Molecular biology  
Strain availability  
References

**Name and taxonomic classification**

Ref.: 18003	<b>Domain</b>	Bacteria
Ref.: 18003	<b>Phylum</b>	Proteobacteria
Ref.: 18003	<b>Class</b>	Alphaproteobacteria
Ref.: 18003	<b>Order</b>	Rhodobacterales
Ref.: 18003	<b>Family</b>	Rhodobacteraceae
Ref.: 18003	<b>Genus</b>	Ruegeria
Ref.: 18003	<b>Species</b>	Ruegeria scottomollicae
Ref.: 18003	<b>Full Scientific Name</b>	Ruegeria scottomollicae Vandecastelaere et al. 2008
Ref.: 18003	<b>Designation:</b>	R-28751
Ref.: 18003	<b>Type strain:</b>	yes
<b>Prokaryotic Nomenclature Up-to-date (PNU)</b>		
Ref.: 20215	<b>Domain</b>	Bacteria
Ref.: 20215	<b>Phylum</b>	Proteobacteria
Ref.: 20215	<b>Class</b>	Alphaproteobacteria
Ref.: 20215	<b>Literature reference</b>	Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 56:1
Ref.: 20215	<b>Family</b>	Rhodobacteraceae
Ref.: 20215	<b>Literature reference</b>	Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 65:3
Ref.: 20215	<b>Genus</b>	Epibacterium

그림 96. BacDive 데이터베이스를 활용한 배양 미생물의 blast 결과

- 3차년도에 진행한 미생물 스크리닝 검사는 정확한 미생물 데이터베이스를 확보하지 못한다는 단점과 특정 미생물, 세균만을 검출할 수 있다는 한계가 있음
- 이러한 문제점을 보완하기 위해 metagenome 방법을 도입하여 연구를 진행하고자 하였음. metagenome 분석은 샘플 내에 있는 모든 미생물을 검출할 수 있기 때문에 다양성 분석과 정확하고 직관적인 데이터를 제시 가능하다는 장점이 있음
- 4차년도부터 질병 검체 없이 양식장 내 양식수를 이용한 해양미생물 분석을 통한 사육수 및 유입수의 미생물 유전자 검사 시스템 확립을 위한 연구를 진행하였음
- 양식수 내의 환경유전체(eDNA)를 분석하여 양식수 내의 미생물 분석과 다양성 분석을 진행하여 유익균 및 유해균을 판단함

나. Amplicon sequence 기반의 메타지놈 분석방법을 활용한 미생물 군집 분석



그림 97. NGS를 활용한 해양미생물 군집분석 방법

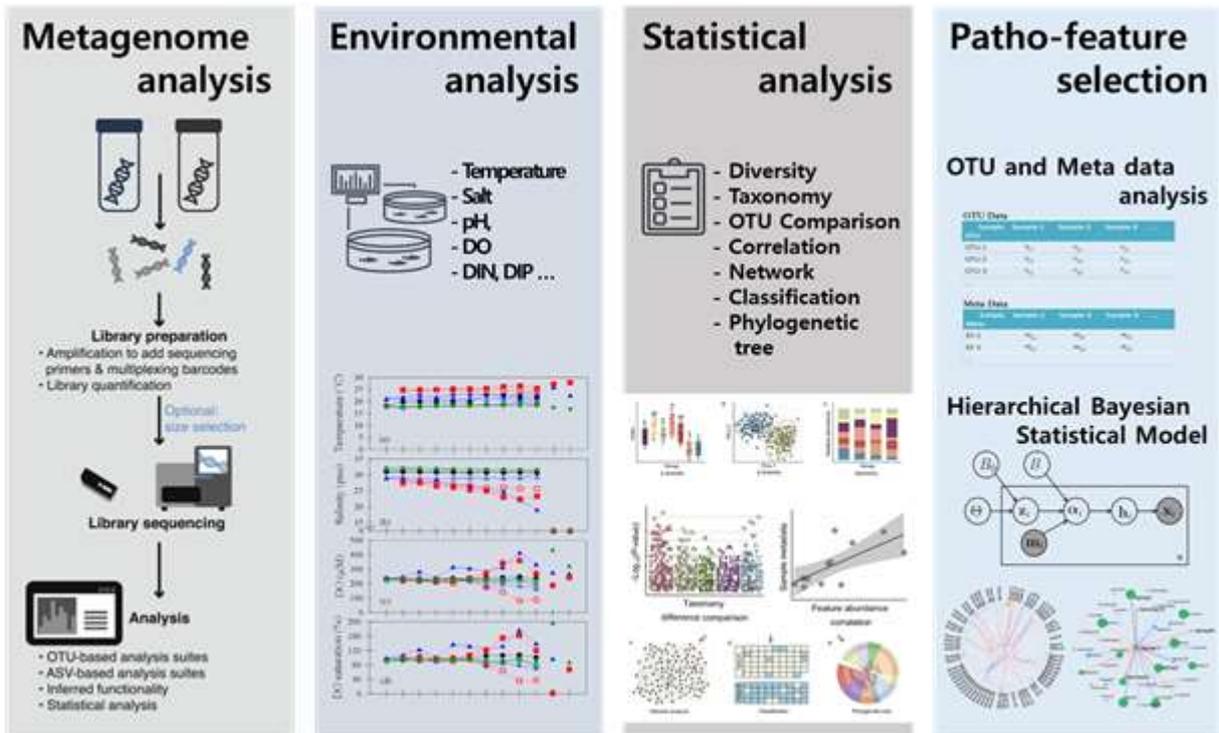


그림 98. eDNA를 이용한 양식수 내 해양미생물 분석 프로세스

(1) 현장 시료 채취

- 터בות 연구사업과제에서 현재 터בות을 생산관리하는 참여기업의 양식장 유입수 및 사육수를 비교 분석함
- 유입수 및 사육수 각각 2L를 채취하였고, 분석 시 변질을 방지하기 위해 아이스박스로 저온 환경을 유지하여 운반함
- 각 샘플은 0.45  $\mu$ m pore size의 Sterivex-GV filter (Millipore, Billerica, USA)와 진공펌프를 사용하여 여과 처리함

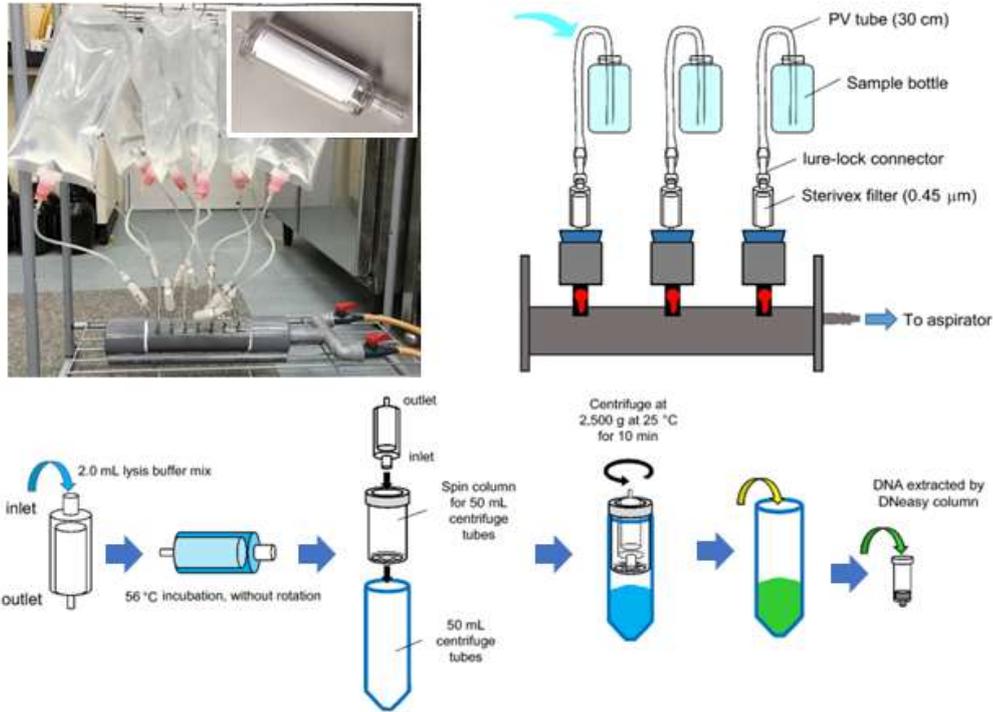


그림 99. 양식수의 환경유전체(eDNA) 추출 과정

- DNA 농도는 spectrophotometer (Nanodrop-2000)을 이용하여 A260/A280 가 1.6 ~ 2.0 값을 가지도록 DNA를 추출하고 농도는 100ng/ $\mu$ L 이상 나오도록 함
- Quality control 확인을 위해 전기영동(electrophoresis)을 이용하여 DNA band를 확인
- 데이터 전처리 및 분석 전까지 -70°C에 냉동 보관

(2) NGS를 위한 library 제작(metabarcoding)

- 미생물의 종 다양성과 군집 구조 분석을 위해서 기존에 개발된 primer 세트를 확보하였음

표 53. 미생물 다양성 분석을 위한 primer 세트

분류군	대상 영역	primer		size
미생물	16S rRNA	Bakt_341F	5' -CCTACGGGNGGCWGCAG-3'	450bp
		Bakt_805R	5' -GACTACHVGGGTATCTAATCC-3'	

- 미생물의 eDNA를 증폭하기 위해 전체 20  $\mu$ L의 양 (DNA template 1  $\mu$ L, AccuPower PCR PreMix(Bioneer, Korea), forward primer 1  $\mu$ L, reverse primer 1  $\mu$ L, D.W. 17  $\mu$ L)으로 PCR을 수행함
- PCR 조건은 95°C에 3분, 이후 95°C에 30초, 55°C에 30초, 72°C에 30초에 25 cycle을 반복하였고, 마지막으로 72°C에 5분을 설정하였음
- Library 제작은 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation (Illumina)에 따라

진행되었으며, 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, USA)를 이용하여 제작 완료된 library의 품질과 양을 확인함

- 기준을 통과한 데이터를 이용하여 Illumina MiSeq platform을 사용하여 NGS 분석을 수행하였음

### (3) NGS 분석 결과 생물 정보 데이터 분석

- Illumina data의 경우 에러율이 0.1% 미만으로 매우 낮다고 알려져 있으나, 1 base pair만 달라져도 해당 시퀀스가 다른 group으로 annotation 될 수 있기 때문에 최대한 에러를 제거하여 분석해야 함
- 에러를 해결하는 방법으로는 운영분류단위(Operational Taxonomic Unit; OTU) clustering 방법이 있으며, 에러를 줄이면서도 정밀하게 sequence 변이를 찾아낼 수 있는 QIIME pipeline 방법을 이용함
- 염기서열 정보에서 어댑터 서열은 제거하며, 두 서열을 읽을 때 정보가 겹치는 영역에 대해서는 오류 교정(error-correction)을 진행
- 각 시료별로 구분된 페어드-엔드(paired-end) 데이터는 FLASH (Macgoč and Salzberg, 2011)를 사용하여 하나로 조립하며, 그 중 100bp 미만인 서열은 제거함
- 얻어진 서열은 CD-HIT-EST 기반의 OTU 분석 프로그램인 CD-HIT-OTU (Li. et al. 2012)를 이용하여 시퀀싱 에러로 간주되는 낮은 품질의 서열, 키메라(Chimera) 서열 등을 제거한 후, 97% 이상의 유사성을 갖는 염기서열끼리 클러스터링(clustering)하여 종 수준의 OTU를 산출함
- 얻어진 염기서열은 16s rRNA database를 활용하여 taxonomic assignment를 수행함
- OTU 정보는 QIIME (ver. 1.8) (Caporaso et al., 2010)을 이용하여 Shannon index와 Inversed simpson index를 구하고 Rarefaction curve와 Chao1 값을 통해 alpha diversity 정보를 확인하였음

### (4) 양식수 내의 해양 미생물 군집 분석

- 돌삼다보어의 안정적인 종자생산 체계를 갖추고자 양식 어종에 가장 기본이 되는 사육수에 대한 기초적인 조사를 위해 양식장의 미생물 검사를 진행하였음
- 양식장의 사육수 내의 미생물을 분석함으로써 사육수 내의 유해균과 유익균을 파악하고 유해한 미생물을 제거하고 유용한 미생물을 유지 및 관리하고자 함
- 양식장의 유입수와 사육수의 분석을 돌삼다보어의 종자 생산 시기에 맞추어 계절적인 분석을 진행하였음

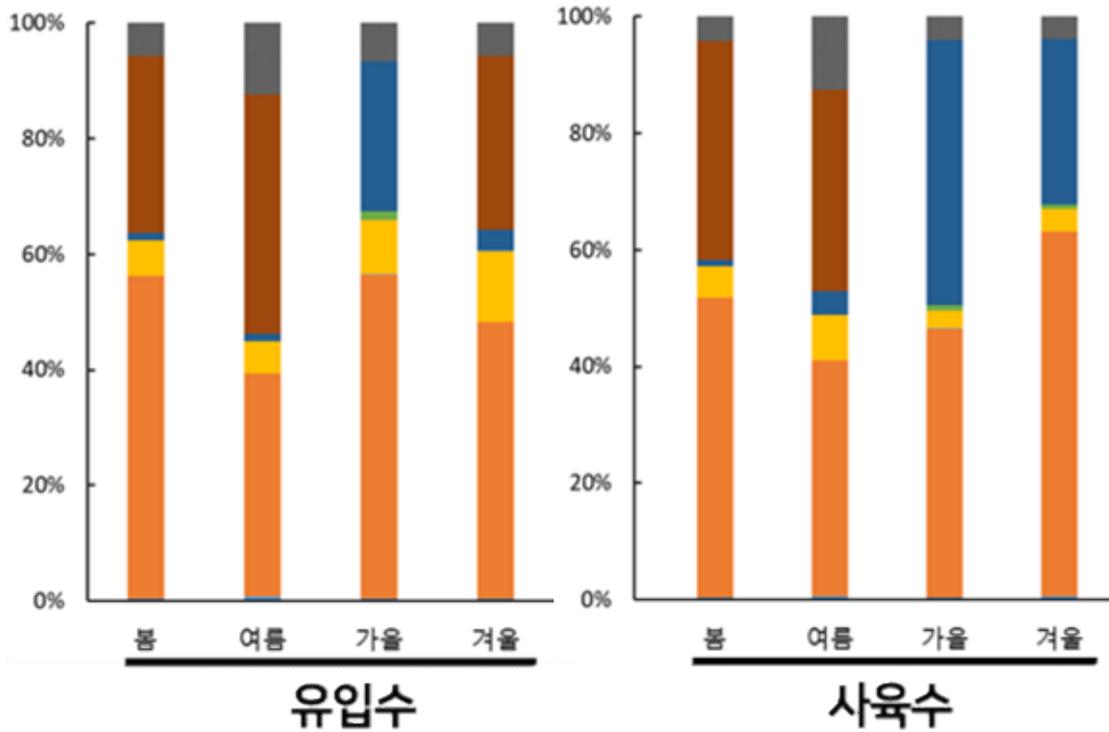


그림 101. 양식장 내 유입수 및 사육수의 미생물 Phylum level OTU ratio (%)

- 유입수 및 사육수에서 사계절 동안 Proteobacteria가 우점종으로 나타났으며, 사육수에서는 수온이 내려갈수록 Cyanobacteria가 높아지는 것을 확인할 수 있었음. 봄, 여름 계절 유입수 및 사육수에서 다양한 미생물 종을 관찰하였음

표 54. 양식장 유입수 내 미생물 Phylum level OTU ratio (%)

Species	유입수			
	봄	여름	가을	겨울
Bacteroidetes	30.2	51.47	0.5	35.2
Cyanobacteria	1.1	1.2	30.4	4.5
Proteobacteria	58.6	39.3	59.5	49.8

표 55. 양식장 사육수 내 미생물 Phylum level OTU ratio (%)

Species	사육수			
	봄	여름	가을	겨울
Bacteroidetes	36.8	32.2	0.1	0.2
Cyanobacteria	0.2	3.1	55.2	30.5
Proteobacteria	58.6	39.3	42.2	62.5

##### (5) 균집분석을 통해 확인된 주요 해양미생물 분석

- *Shewanella sediminis* : 오염된 금속 및 방사성 폐기물의 생물정화 역할을 함
  - *Holophaga foetida* : 방향성 화합물을 혐기적으로 분해하는 능력과 휘발성 황화합물을 생산하는 것으로 알려짐
  - *Dokdonia donghaensis* : 생물막을 형성하는 능력을 가지고있어 테트라 사이클린과 같은 항균제에 대한 유기체의 내성을 증가시킴
  - *Porticoccus hydrocarbonoclasticus* : 광합성 및 산소 생산의 주요 부분을 담당함
  - *Phaeobacter porticola* : 따개비에서 추출한 균으로 항생제를 생산하는 역할을 함
  - *Colwellia polaris* : 벤젠, 톨루엔, 에틸벤젠, 자일렌과 같은 독성물질을 분해하는 역할을 함
  - *Alteromonas stellipolaris*, *Alteromonas naphthalenivorans* : 항균, 항종양제로 광범위한 역할. *Vibrio* spp.와 같은 박테리아에서 독성인자를 제어하는 것으로 알려짐
  - *Cellulophaga tyrosinoydans* : Tyrosinase를 생성하는 박테리아
  - *Porticoccus hydrocarbonoclasticus* : 방향족 탄화수소 분해 박테리아
  - *Pseudoalteromonas agarivorans* : 용혈 작용. 즉, 적혈구의 막을 붕괴시켜 내부의 헤모글로빈이 혈장중에 방출되기 때문에, 산소운반체가 없어지게 되며, 심각할 경우에는 폐사함
  - *Pseudoalteromonas tetraodonis* : 복어의 표면 점액에서 분리된 해양 박테리아이며 신경독인 테트로도톡신을 분비함
  - *Vibrio ichthyenteri* : 감염초기에 장의 후반부에 경미한 백탁 증상을 나타냄, 장의 전반부의 일부 및 직장에 카타르성 염증이 생김
  - *Colwellia* spp. : 벤젠, 톨루엔, 에틸벤젠, 자일렌과 같은 독성물질을 분해하는 역할을 함
  - *Vibrio scophthalmi* : 조직병리학적 병변으로서 간 위축, 장 상피 탈락, 장내 세포 물질 유출 및 장관백탁증 등이 나타남
  - *AliiVibrio salmonicida* : 대서양 연어, 대구 및 무지개 송어에서 식육부진, 불규칙한 유영, 용혈작용, 패혈증을 유발함
  - *Vibrio cyclitrophicus*, *Vibrio alginolyticus* : 양식 어종에서 대량 폐사를 유도하고 인간이 섭취한 경우에는 식중독 발생시킴
  - *Vibrio gigantis* : 세포독성 실험에서 세포 독성값이 3.8%로 측정되었음
  - *Photobacterium piscicola* : *P. damsela* 아종 *Piscicida* spp.는 어류 폐련의 원인균, 감염된 물고기의 비장과 신장을 감염시켜 폐사시킴
- 양식장 내에서 유익균뿐만 아니라 어류의 폐사 및 인간에게 식중독을 일으키는 *Vibrio* spp. (*Vibrio cyclitrophicus*, *Vibrio alginolyticus* 등)과 같은 양식어류에 영향을 주는 유해균이 관찰됨. 양식장 내에서 대량 폐사를 일으킬 가능성이 있기 때문에 지속적인 모니터링을 통한 양식장 내 사육수 및 유입수 관리를 진행 중임
- 돌삼다보어 뿐만 아니라 모든 양식장에서 어류의 건강증자 생산과 관리를 위해 양식장 내 사육수 관리는 필수적이기 때문에 주기적으로 모니터링을 진행하여 사육수 및 유입수 관리를 진행할 필요가 있음

## 2. 돌삼다보어 주요 감염질병 예방을 위한 천연소독제 후보물질 개발

### 가. 돌삼다보어 VHSV 감염 예방 연구

- 세계시장 확대와 양식생산량의 지속적인 성장에 맞춰서 우리나라 또한 터봇 종자에 대한 안정적인 생산을 바탕으로 수출 확대를 꾀하기 위해서는 치어기 치명적인 바이러스성 질병을 발생시키는 Viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV)에 대한 대책이 필요
- 터봇 치어기 VHSV 감염시 체내외 출혈을 일으키며, 최대 누적폐사량 100%에 도달할 정도로 치사율이 높음
- 유럽산 터봇은 VHSV genotype I, III에 감수성이 높은 것으로 학계에 보고되었으며, 우리나라, 중국지역 터봇은 VHSV genotype IVa에 감수성이 높은 것으로 보고됨
- 현재 VHSV genotype IVa에 대한 약독화생백신은 2015년 노르웨이 오이스틴에반슨 교수와 김성현 박사(현, 피쉬케어연구소 소장)에 의해 개발되었으나, GMO 방식에 의한 백신 개발이므로 산업화로는 확대되지 못함
- 현재까지 터봇에서 VHSV 감염을 막을 수 있는 방법은 방역으로 화학 소독제를 이용하고 있으나, 이는 친환경적이지 못한 방법이기 때문에 시장 확대에 역효과를 야기할 수 있음
- 이를 극복하기 위해서 현재까지 바이러스에 대한 방역을 화학제제에서 천연소독제로 변화가 필요하다고 판단되어 연구를 진행함



그림 103. VHSV 감염 돌삼다보어 종자의 병변

- VHSV 방역을 위한 천연 소독제 후보물질 선정 기준은 다음과 같음
  - 후보물질이 어체에 무해할 것
  - 후보물질이 인체에 무해할 것
  - 후보물질 추출 후보군이 어체에 무해할 것
  - 후보물질 추출 후보군이 인체에 무해할 것
  - 후보물질 추출 후보군의 배양이 용이할 것
  - 후보물질이 대량생산이 용이할 것
- 친환경적인 소독제를 생산할 수 있는 후보 균주 중 하나인 고초균(*Bacillus subtilis*)은 자연환경에서 매우 쉽게 접할 수 있는 미생물로 발표된 병원성이 없는 매우 안전한 미생물로 확인되었으며, 고초균 균주 사이의 터봇 병원체에 대한 항생 능력 차이를 well diffusion method를 이용하여 시험함

#### 나. *B. subtilis* 균주별 항균능력 비교

- BHI agar에 *Streptococcus parauberis*, *Streptococcus iniae*, *Edward tarda* 및 *Pseudomonas* spp.를  $5 \times 10^5$  cfu/ml가 되도록 도말한 후 각각의 병원체가 도말된 배지에 고초균을 균주별로 접종하고 25°C에서 24시간 배양 후 저지대의 크기를 비교함
- 실험 결과 *B. subtilis* DH2 균주의 저지대가 가장 뚜렷하게 발현되었고, 이에 따라 *B. subtilis* DH2를 후보로 선정하였음



그림 104. 바실러스 균주별 *E. tarda*에 대한 항생능력 차이 비교

#### 다. *B. subtilis* DH2와 플루메퀸 항생제의 병원성 미생물에 대한 항균력 비교 분석

- *B. subtilis* DH2의 항균력을 확인하기 위하여 양식환경에서 다양한 병원성 박테리아에 적용하는 플루메퀸 항생제와 항생능을 가진 다양한 미생물의 항균력 비교 분석 well diffusion method를 이용하여 비교함

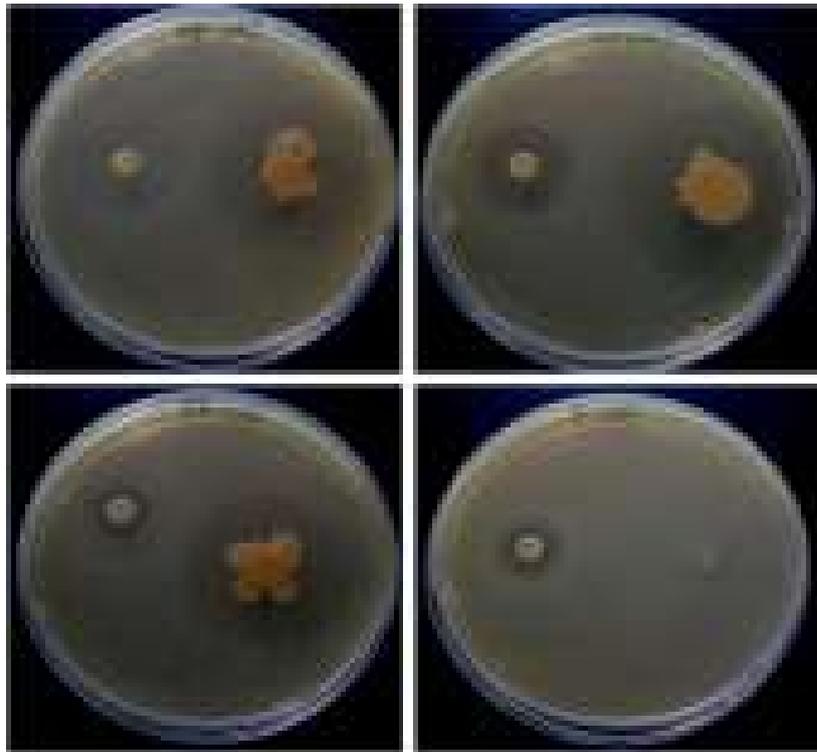


그림 105. 4종 병원체에 대한 *B. subtilis* DH2와 플루메퀸의 세균성장 저지대

- 분석에 이용된 4종의 병원성 미생물(*Streptococcus parauberis*, *Streptococcus iniae*, *Edward tarda*, *Pseudomonas* spp.)에 대한 살균효과 분석 결과 *Streptococcus parauberis*의 경우 플루메퀸보다 낮은 효과를 보였으나, 다른 병원성 미생물에 대해서는 *B. subtilis* DH2가 상대적으로 높은 효과를 보임
- *B. subtilis* DH2의 추출물 분석을 통해 안전한 천연 항생물질을 개발할 수 있을 것으로 기대함
- *B. subtilis*를 사료에 혼합급이하여 VHSV를 인위적으로 감염시킨 뒤, VHSV의 감염 징후를 확인하는 실험을 진행하였음. *B. subtilis*를 혼합급이한 실험구의 터벗에서 VHSV 감염 징후인 비장과 신장의 비대 현상이 관찰되지 않았지만, *B. subtilis*를 혼합급이하지 않은 대조구의 터벗에서는 감염 징후가 관찰되었음. 이는 *B. subtilis* 섭취가 VHSV의 예방에 효과적이라는 것을 보여줌

### 3. 제주지역 양식 터봇의 질병 모니터링

#### 가. 제주지역 양식 터봇 및 넙치의 질병 모니터링 비교 분석

- 건강 종자 생산을 위해 질병 모니터링을 통한 건강한 친어관리 및 안정적인 수정란 생산체계를 구축하고자 함
- 제주지역 내 터봇 양식장을 대상으로 질병 모니터링을 실시하였음
- 모니터링은 현미경을 이용한 외부 병원체 감염 여부 판단, 해부 후 내부 장기 채취 및 도말, 분리된 균의 생화학적 테스트, PCR 등을 통한 종 동정의 순서로 이루어짐
- 3차년도에는 총 99마리의 터봇의 질병 검사를 진행하였으며, 같은 양식 현장에서 총 373마리의 넙치의 질병 검사를 진행함



그림 106. *Edwardsiella tarda*에 감염된 제주 지역 터봇 종자 샘플링

- 터봇에서 주로 발견된 외부 병원체는 *Vibrio* spp.로 연구기간동안 지속적으로 관찰되었으며, 전체 터봇의 36.4%에서 관찰됨
- 스쿠티카충은 2월, 3월, 7월에 소수 개체에서 관찰되었으며, 5.1%로 낮은 비율로 관찰됨
- *E. tarda*는 연구 기간 동안 지속적으로 검출되었으며, 전체 터봇의 55.6%에서 검출됨
- *S. parauberis*는 6월과 8월에 각각 1마리씩 검출되어 전체의 2%에서 검출됨
- 터봇과 동일 양식 현장에서 채집하여 질병검사를 진행한 넙치 외부에서 연구 기간 동안 지속적으로 *Vibrio* spp.가 관찰되었으며, 전체 넙치의 63.5%에서 관찰됨
- 넙치에서 스쿠티카충은 7월에 주로 관찰되었으며, 전체의 22.8%의 넙치에서 관찰됨

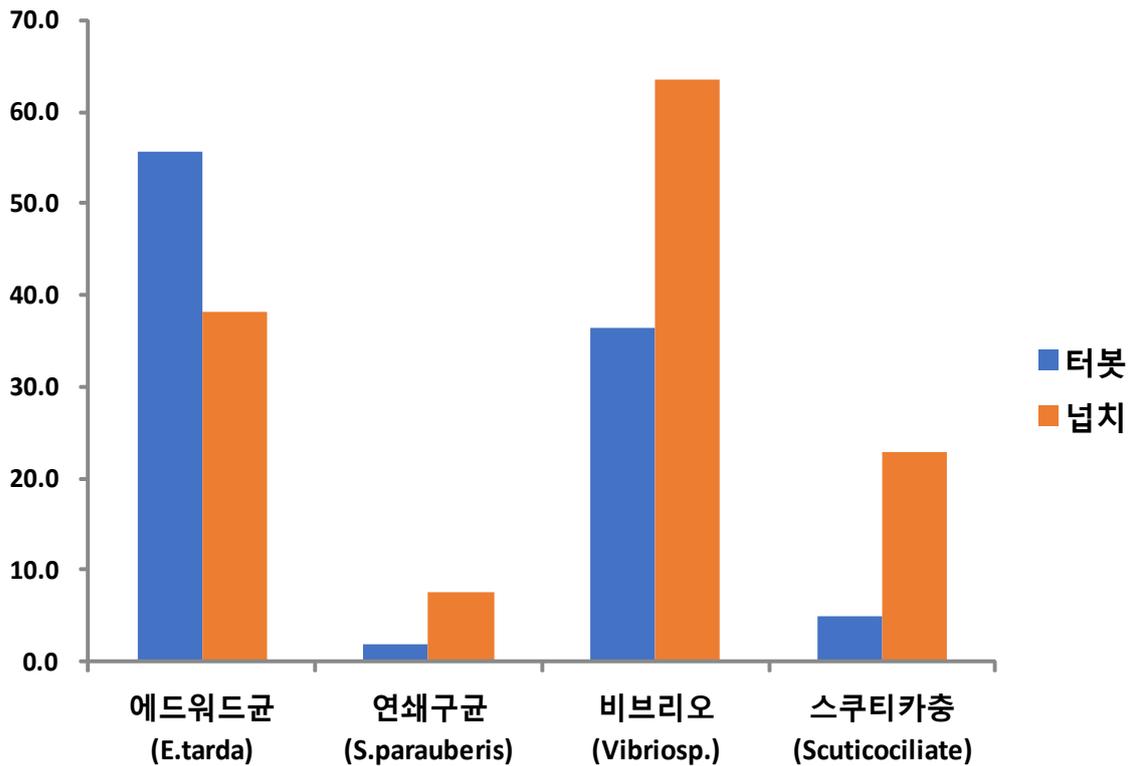


그림 107. 제주지역 터봇과 넙치의 주요 세균성 질병의 감염 비교분석

- 동일한 양어장에서 동일한 방법으로 터봇과 넙치를 사육하였으나, 터봇에서 *E. tarda* 검출률이 높았으며, 넙치에서는 *S. parauberis* 검출률이 터봇보다 높아 사육에 영향을 주는 질병은 넙치와 터봇 사이에 차이가 있음을 확인
- 넙치 양식 중에 큰 피해를 발생시키는 병원성 기생충인 스쿠티카충의 감염률은 넙치에 비하여 터봇이 현저히 낮은 것(5.1%)으로 확인됨
- 넙치에서 복합감염의 피해를 일으킬 수 있는 것으로 보고되어있는 *Vibrio* spp.는 넙치(63.5%)보다 터봇에서 낮은 검출(36.4%)을 보였으나, *E. tarda* 다음으로 높은 검출률을 보인 병원체로 이에 대한 대비가 필요함
- 터봇에서 *E. tarda*는 연중 검출되어 에드워드증 대응이 터봇 양식에 주요한 질병 관리의 한 축으로 판단됨

## 나. 2020년 제주지역 양식 터봇의 주요 세균성 병원체 감염 분석

- 제주지역의 모든 터봇 양식장을 주 1회 방문하여 각 양식장의 폐사개체 10마리틀의 주요 세균성 병원체 검출 분석을 진행함
- 질병검사의 대상 양식장은 중국에서 수입된 터봇 및 국내에서 생산된 터봇 종자를 모두 활용하여 터봇을 생산하고 있음
- 국내에서 생산된 터봇 종자와 중국에서 수입된 터봇 종자의 세균성 병원체 감염과 관련하여 광범위하게 모니터링할 수 있는 방법으로 판단됨

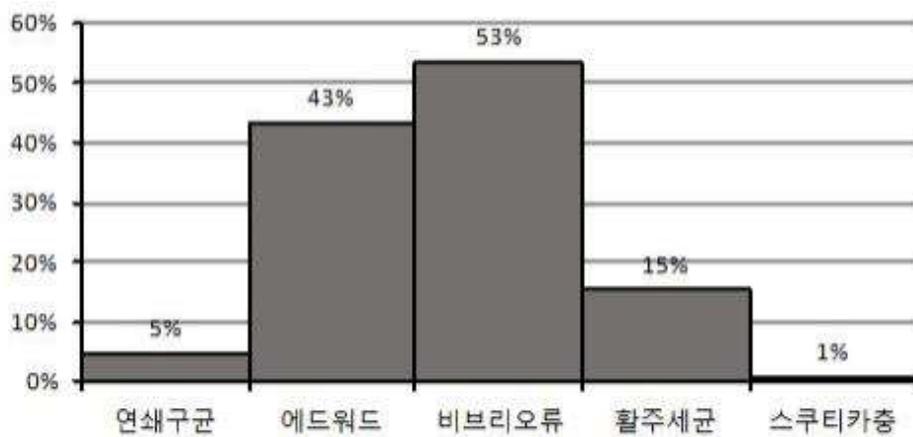


그림 108. 2020년 제주지역 터봇의 주요 세균성 병원체 검출 분석

- 연쇄구균은 모두 *Streptococcus parauberis*로 확인되었으며, 주로 1월 ~ 3월 사이 매우 적은 개체에서 검출됨
- 에드워드는 대부분 기간에서 검출되었으며 전체 개체의 43%에서 검출됨



그림 109. 에드워드에 감염된 중국 수입 터봇 종자의 유안측

- 체외 비브리오류는 연구 기간 동안 검출되었으며 전체의 53%에서 검출됨



그림 110. 비브리오류에 감염된 터봇 종자에서 관찰된 등지느러미와 미병부 궤양

- 비브리오류 감염 개체는 체표에 체액 기준으로 10cells/0.1ml 이하 감염 개체에서는 병변이나 건강 이상이 관찰되지 않으나 이 이상 혹은 아가미에 기생이 확인된 개체는 에드워드 또는 활주세균과 복합으로 검출됨



그림 111. 활주세균과 비브리오류의 복합 감염된 터봇의 병변 분석

- 스쿠티카충은 1개체에서만 검출되었으며, 궤양 및 기타 병변 증상을 나타내지 않음
- 활주세균류는 수온이 비교적 높은 5 ~ 9월에 주로 검출되었으며, 단독으로 검출된 개체는 없으며 검출 전 개체에서 비브리오류와 복합적으로 검출됨

## 다. 2021년 제주지역 양식 터봇의 주요 세균성 병원체 감염 분석

- 연쇄구균은 모두 *Streptococcus parauberis*로 확인되었으며, 연구 기간 동안 적은 개체에서 검출되었으며, 에드워드균은 4차년도까지 *Edwardsiella tarda*로 보고하였으나 최근 연구 동향 보고와 비교하여 피쉬케어 자체적으로 분석 결과 *E. piscicida*로 판명

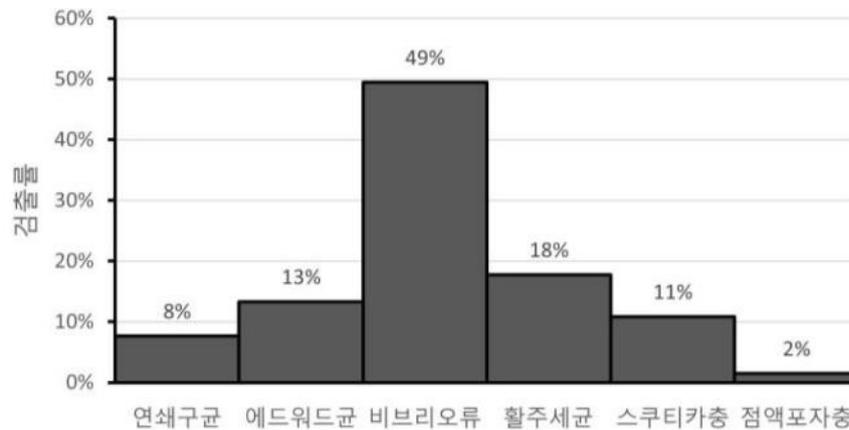


그림 112. 2021년 제주지역 양식 터봇의 병원체 검출률

- 에드워드균은 연중 검출되었으며 2020년(43%)보다 낮은 비율(13%)로 검출됨. 체외 기생성 세균류 중 비브리오류는 연중 검출되었으며, 어체의 크기에 관계없이 49%의 개체에서 검출됨. 체외 기생성 세균류 중 활주세균은 18% 검출되었으며 비브리오류와 복합감염 형태로 검출됨
- 스쿠티카충은 2020년(1%)보다 높은 비율(10%)로 검출되었으며, 지느러미 손상, 유안측 발적 및 무안측 발적 확인



그림 113. 스쿠티카충에 감염된 터봇 개체의 지느러미 손상

- 넙치에서 여윌증을 유발하는 점액포자충(*Enteromyxum leei*)이 2% 개체에서 검출되었으며, 여윌의 발병은 없었으나 지속적인 모니터링을 요구

## 라. 터봇 종자의 에드워드증 발병 양상 분석

- 양식 터봇의 질병에 관한 정보 중에서 국내에서 발생하는 동아시아지역 토착 병원성 세균에 대한 질병 발달 양상에 대한 정보가 가장 미흡한 상황이며, 특히 대표적인 넙치 고병원성 세균 6종(*Edwardsiella tarda*, *Vibrio harveyi*, *Streptococcus iniae*, *Streptococcus parauberis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Flexibacter maritimus*)에 대한 터봇 종자 생산과정에서 질병 초기 대응을 위한 현장 대응 매뉴얼이 필요함
- 해당 고병원성 세균성 질병 중 2차년도 연구과제 수행 중에 터봇 양식에 큰 피해를 줄 것으로 예상되는 *E. tarda* 발병으로 예상하는 터봇의 병리적 증상은 다음과 같음



그림 114. 에드워드증 발병 터봇의 주요 증상

- 균동정: 그람음성, 간균, 참돔유래균 (운동성 -), 넙치 유래균 (운동성 +)
  - 외부증상: 주둥이 출혈, 아가미 출혈, 지느러미 출혈 등
  - 내부증상: 간 출혈 및 혈관확장, 장출혈, 비장 병변, 담낭 비대, 신장 비대 등
  - 간이진단법: 항생제 억제 테스트
  - 세균진단법: SS배지 (H<sub>2</sub>S발생), 생화학테스트, 분자생물학적 진단 (PCR)
- 양식 현장의 넙치에서 유래한 에드워드균(*E. tarda*)의 터봇 종자 인위적 감염실험은 다음과 같은 방법으로 수행하였음
    - 넙치 유래 고병원성 *E. tarda*, 분리 동정 후 단일 colony 배양
    - 넙치 치어와 터봇 치어에 넙치 치어 LD50 (Lethal Dose 50)를 계산
    - *In vivo* 넙치 치어와 터봇 치어에 인위적 감염실험
    - 터봇 치어의 세균성 질병 발달 양상을 넙치 치어의 경우와 비교 분석
    - 감염 전, 후 사육 수온 변화에 대한 발병양상 비교 분석

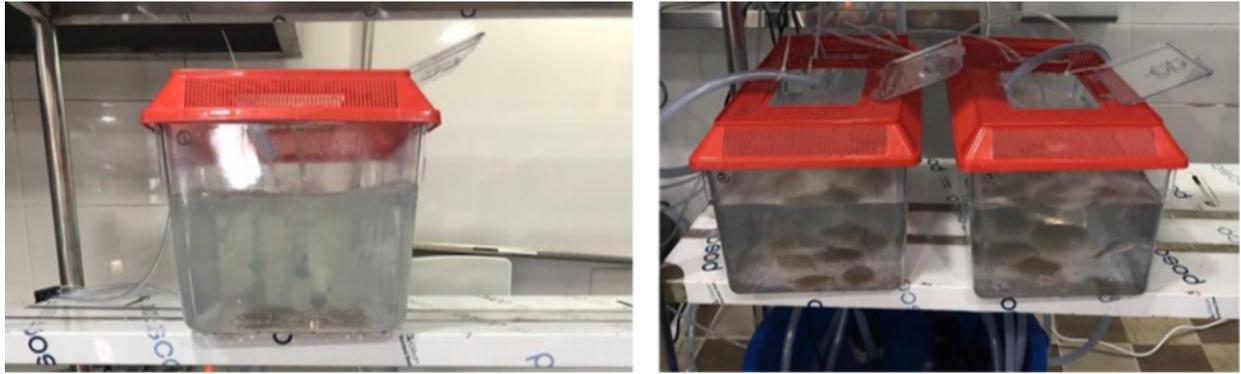


그림 115. 국내 터봇 종자 치어와 넙치 종자 치어의 *E. tarda* 감염 연구

- 터봇 종자의 에드워드 감염 실험 결과 외부 증상으로 지느러미와 아가미의 출혈, 무안 측 지느러미 기저부의 발적이 관찰되었으며, 넙치의 경우 주요 에드워드 감염 시 복부팽만과 탈장 등이 발생
- 터봇의 *E. tarda* 감염 시 증상에 차이가 있어 질병 관리에 주의가 필요함

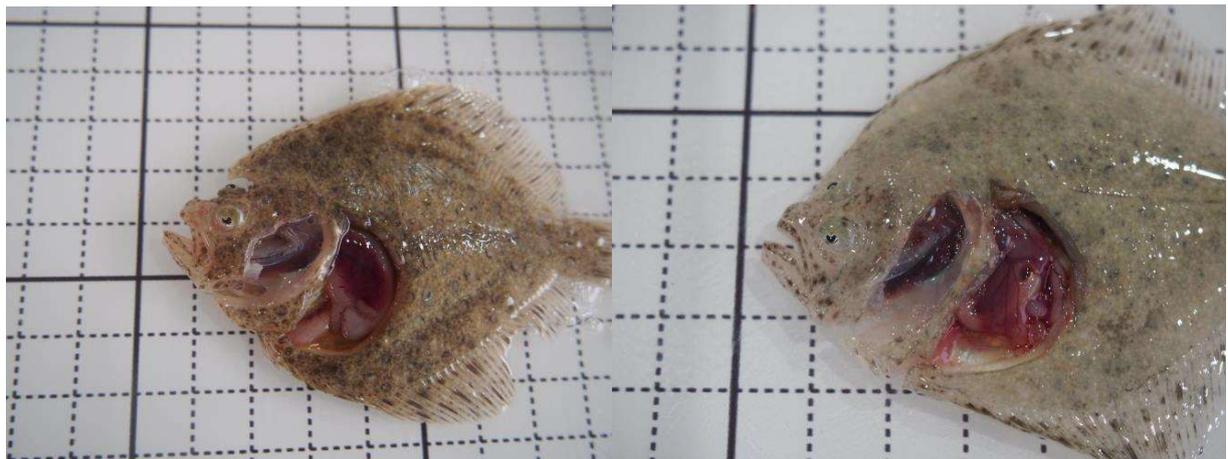


그림 116. *Edward tarda*에 인위적으로 감염된 터봇의 감염 5일 경과 후 내부장기 상태

#### 마. 터봇 종자에 대한 *Vibrio* spp. 감염 대응방법 구축

- 제주지역 넙치 양식 현장에서 넙치의 *Vibrio* spp. 감염 확인 시 주요 대응 방법으로는 환수량 증가, 수조 청소, Oxytetracycline(OTC) 약제를 이용한 약욕 및 수산용 포르말린, 수산용 과산화수소 및 수산용 황산구리 소독제를 이용한 소독 등이 있음
- 제주지역에서 활용하는 넙치 양식 과정에서 *Vibrio* spp. 감염에 대응하는 방법이 터봇 양식에 적용 가능한지 확인이 필요함
- 제주지역의 양식장에서 터봇 치어를 확보한 다음 질병을 검사하여 병이 없는 터봇 치어를 실험에 이용하였으며, 제주지역 양식넙치에서 유래한 *Vibrio* spp.를 침지방식으로 터봇 치어에 인위적으로 감염시킨 다음 체외 기생 여부 확인하였음
- 기생여부 확인이 끝난 수조의 터봇은 각각 대조구, 저농도 소독구, 고농도 소독구로 구분하고, 소독이 끝난 터봇은 1마리씩 채취하여 체표의 체액과 아가미 세엽을 추출한 다음 현미경을 이용하여 *Vibrio* spp. 기생 여부 확인하였음



그림 117. 터봇 *Vibrio* spp. 구제방법 연구를 위한 사육수조

- 실험 결과 소독 후 대조구에서는 체표와 아가미에서 *Vibrio* spp.가 다량 확인되었으나, 소독 실험구 모두에서 2개체의 체표에서 소량 관찰되었으며, 아가미에서는 관찰되지 않음
- 황산구리 소독제를 이용한 소독욕이 체외 기생성 *Vibrio* spp. 구제에 효과가 있음을 확인하였음

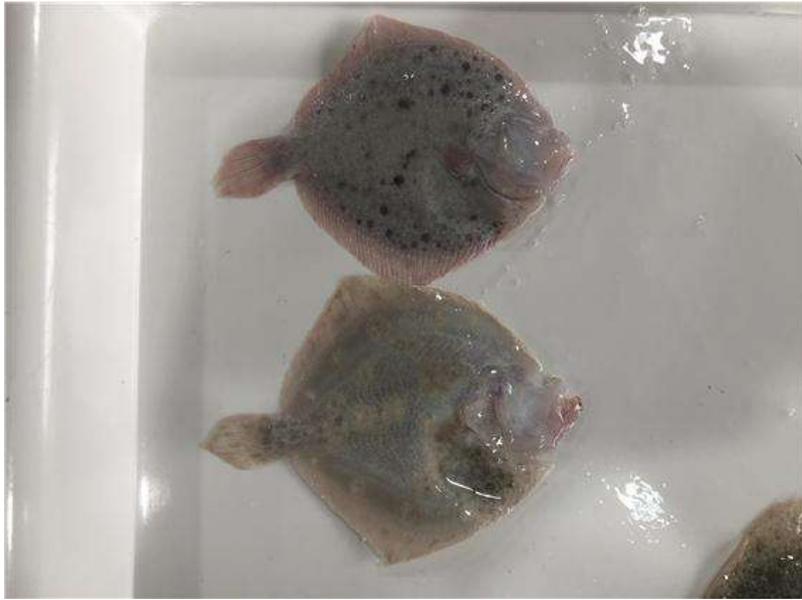


그림 118. 감염 분석을 위한 *Vibrio* spp. 감염 터봇 종자

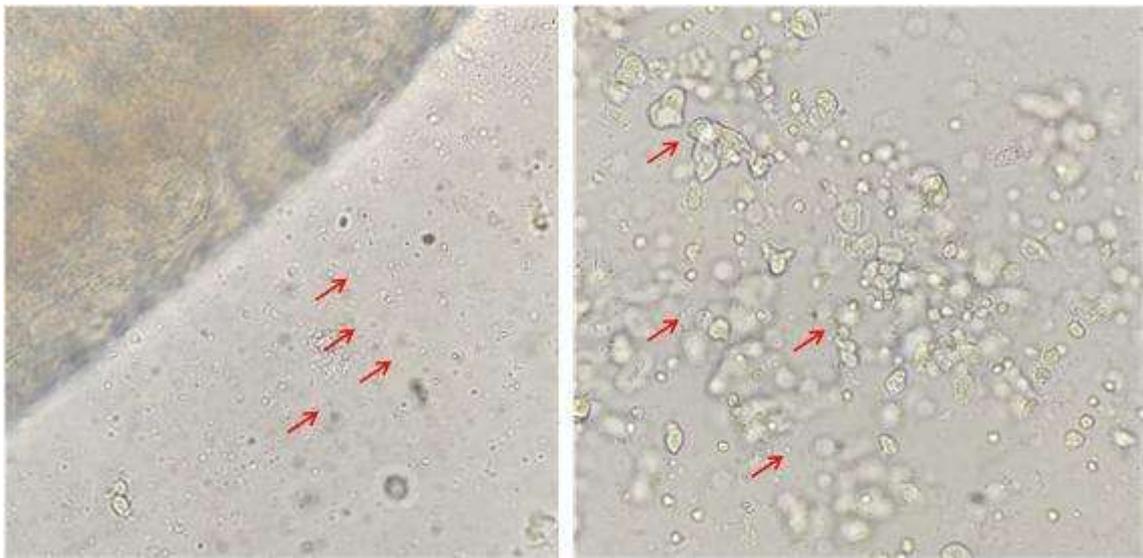


그림 119. *Vibrio* spp.에 감염된 터봇에서 추출한 아가미의 현미경 사진

## 바. 터봇 건강종자 생산을 위한 질병관리 매뉴얼 현장 적용방법 구축

- 2~4년차 터봇 종자 질병 모니터링 과정에서 세균 감염에 의한 질병 중 에드워드증에 의한 피해가 가장 큰 것으로 확인함
- 넙치에서 체표 및 아가미의 *Vibrio* spp. 감염은 어체의 컨디션을 낮출 뿐만 아니라 다양한 병원체의 복합감염을 유도하여 *Vibrio* spp.의 제어가 주요함이 보고됨
- 또한, 터봇의 체표 궤양에서 *Vibrio* spp.가 주로 관찰되어 *Vibrio* spp.를 억제할 수 있을 경우 발생할 수 있는 기생충에 의한 피해도 억제 가능할 것으로 판단됨
- 터봇에서 주로 검출되는 병원체의 제어를 위하여 다음 매뉴얼을 제시함
- CuSO<sub>4</sub> 기반의 소독제 사용
  - 양식 집기류(뜰채, 카트, 장화류)는 사용 후 담수를 이용하여 잘 세척 후 건조하여 보관하며, 사용 전 20% CuSO<sub>4</sub> 소독액을 10ppm으로 희석한 소독수에 침지 혹은 소독수를 도포하는 방식으로 소독 후 사용
  - 양식 수조는 20% CuSO<sub>4</sub> 소독액을 100ppm으로 희석한 소독수를 이용하여 소독 후 이용
- 질병 초기 대응
  - 사료 급여 시 등의 주기를 양식 현장 환경에 맞게 지정하여 육안으로 관찰할 수 있는 사료량 감소 행동 이상, 체표 발적 등을 관찰
  - 빈사 개체 또는 폐사 시 해당 개체의 무안측과 유안측에서 발적, 아가미 뚜껍의 발적 및 아가미 손상 확인
  - 증상 확인 시 질병검사기관(수산질병관리원 등)에 의뢰하여 정확한 질병 진단
  - 정확한 질병 진단 후 양식장 자체 질병 대응 방법을 이용하여 질병 대응
  - 질병검사 기관을 이용한 주기적인 병원체 모니터링이 병리학적 증상 발현 전 병원체 검출을 통하여 질병 초기대응을 유리하게 함

## 9절. 품종보호를 위한 3배체 유도 종자 생산

### 1. 3배체 기술 적용 방법 검토

- 본 과제에서는 수출 목표시장인 중국, 남미 등의 글로벌 시장을 선점하는 동안 유전체 육종의 결과 복제를 방지하기 위하여 산업적 활용이 가장 빠르고 효율적인 것으로 판단되는 3배체 염색체 터봇 기술을 적용하였음
- 3배체 터봇 종자 개발을 통하여 불임화된 우량 터봇 종자를 개발하고자 하였으며 3배체는 정상 2배체 개체보다 반수체만큼의 염색체 수를 더 갖는 개체를 뜻함. 3배체 염색체를 가진 육상동물은 아예 자라지 않는 반면, 어류는 성장하기는 하지만 유도된 3배체는 정상적인 감수분열을 수행하지 못하므로 대부분 기능적인 불임이므로 유전자원의 재사용을 미연에 방지할 수 있음

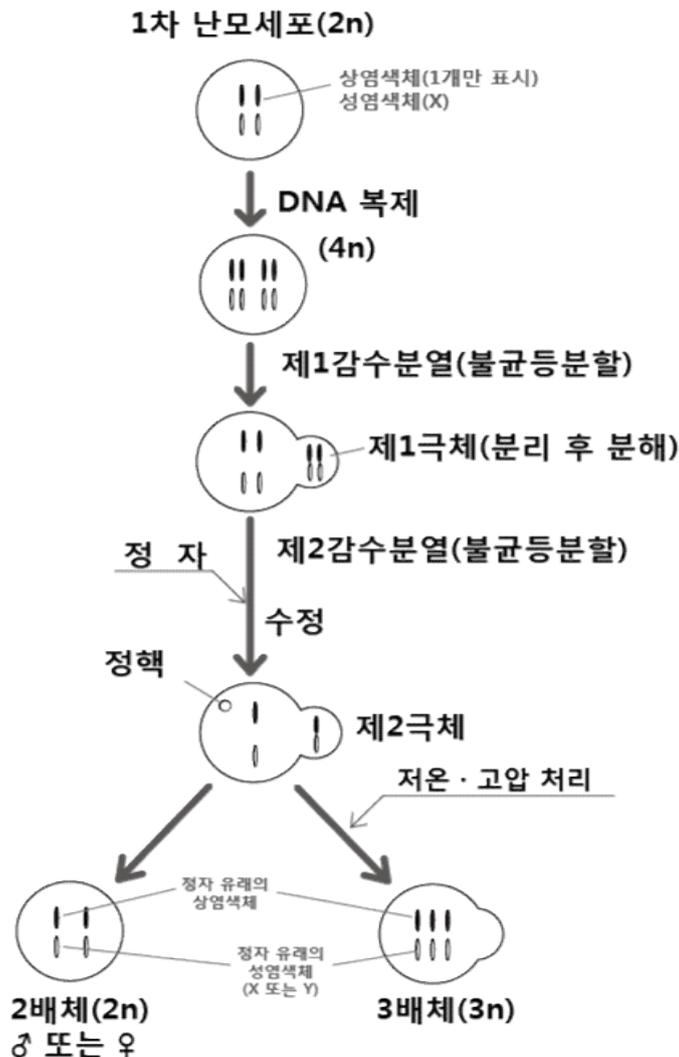


그림 120. 어류의 3배체 유도

- 어류의 3배체 염색체 생산방법은 4배체 염색체 개체를 이용하는 방법이나, 온도 또는 압력을 조절하거나 화학적 방법을 통해 제 2감수분열 중기에서 제 2극체 방출을 억제시킴으로서 이루어지며 국내에서도 넙치 수정란을 이용하여 3배체 염색체 넙치 연구를 진행한 예가 있음(표 56, 57)
- 고온처리(heat shock), 저온처리(cold shock) : 연어과 어류와 같은 냉수성어류에서는 고온처리가 잉어과 어류와 같은 온수성어류에서는 저온처리가 적용됨
- 물리적 처리(physical shock) : 물리적인 수압처리(hydrostatic pressure)는 7,000 ~ 9,000 psi의 고압으로 유도하나 취급의 어려움과 처리하는 수정란의 수가 제한되는 단점이 있음
- 화학적처리(chemical shock) : nitrous oxide(NO)와 freon 22와 같은 마취제, colchicine 및 cytochalasin B 등의 화학물질에 의한 처리로서 이런 물질에 의한 세포독성이 부작용으로 나타나고 있음

표 56. 넙치류 3배체 생산방법

구분	품종 (저자)	처리방법	연구 결과
1	넙치 Kim et al(1994a)	저온처리 2℃; I=3min, D=45min	3배체율 92%, 부상률 32.6%; 수정률 67.8%, 부화율 34.4%
2	넙치 Kim et al(1994b)	저온처리 2℃; I=3min, D=45min	3배체율 92.6%, 부상률 26.4~27.4%; 수정률 60%, 부화율 42.1%
3	넙치 Xu et al(2010)	저온처리 3℃; I=3min, D=25min	3배체율 100%, 생존률 93.3%, 기형률 15.9%
4	터봇 Piferrer, Francesc, et al(2000)	저온처리 0℃; I=50min, D=20min	3배체율 87%, 생존률 77%

표 57. 어류의 3배체 생산방법(I = 수정후 처리시작시간 D = 처리시간)

처리방법	결과	비고
연어		
저온처리 0°C; I=10min, D=13h	포배기에서 3% 3배체 생존	Svardson(1945)
큰가시고기		
저온처리 0°C; I=3min, D=1.5~3h	56% 3배체, 15% 생존	Swarup, H.(1959)
고온처리 34~40°C, I=10min, D=5min	50% 3배체, 10% 생존	
철갑상어(Sterlet)		
고온처리 34°C; I=첫 난할, D=3min	52% 3배체, 46% 생존	Vasetsky(1967)
잉어(Common carp)		
잉어과 교잡	모두 3배체	Vasil'ev et al(1975)
저온처리 0°C; I=10min, D=10min	3배체	Ojima nd Makino(1978)
저온처리 0~2°C; I=5min, D=45min	100% 3배체 60%이상 생존	Gervai et al(1980)
가자미류(Platichthys flesus)		
저온처리 0°C; I=15min, D=2~5h	100% 3배체	Purdom(1972)
초어		
초어 교잡	34% 3배체	Beci et al(1980)
저온처리 5°C; I=5min, D=6min	18% 3배체, 78% 포배기 생존	Cassani and Caton(1985)
고온처리 40°C; I=5min, D=1min	8% 3배체, 81% 포배기 생존	Cassani and Caton(1985)
틸라피아류		
저온처리 11°C; I=15min, D=1h	75% 3배체, 90% 생존	Valenti(1975)
고온처리 38°C; I=15min, D=1h	10% 3배체, 50% 생존	Valenti(1975)
고온처리 40°C; I=5min, D=30min	60~100% 3배체 55~63% 생존	Penman et al(1987)
저온처리 14°C; I=5min, D=1h	83.3% 3배체, 56.7% 생존	Kim et al(1990)
대서양 연어		
고온처리 32°C; I=15min, D=5min	100% 3배체, 90% 생존	Benfey(1984)
고온처리 30°C; I=20min, D=12min	100% 3배체, 67% 생존	Johnstone(1985)
고압처리 710kg/cm <sup>2</sup> ; I=15°C, D=6min	100% 3배체 89% 생존	Benfey(1984)
차넬메기		
저온처리 0°C; I=5min, D=1h	100% 3배체, 80% 생존	Wolters et al(1981)
고온처리 40°C; I=80~90min, D=3min	62% 3배체, 40% 생존	Bidwell et al(1985)
무지개 송어		
고온처리 30°C; I=0~70min, D=10min	50% 3배체	Chourrout(1980)
고온처리 36°C; I=10min, D=1min	43% 3배체, 33%, 배체형성기 생존	Thorgaard et al(1981)
고온처리 26°C; I=25min, D=20min	98% 3배체, 87% 생존	Chourrout et al(1982)
고온처리 26~28°C; I=40min, D=10min	83~100% 생존, 50~70% 생존	Soalr et al(1984)
고압처리 420kg/cm <sup>2</sup> ; I=10min, D=8min	100% 3배체, 53% 생존	Chourrout(1984)

## 2. 터봇 3배체 수정란 유도

- 1, 2차년도에는 인공 수정 후 제2극체 방출 억제를 위해 저온 자극 및 압력 자극 방법을 비교 검토하고자 하였음
- 2배체 수정란 생산과 마찬가지로 본 실험에 사용한 친어는 3~4년생으로 2017년 3월부터 외부환경을 조절하여 성성숙을 유도하였음. 충분히 성성숙한 암컷은 선택하여 LHRH A3 (Luteinizing Hormone Releasing Hormone A3) 30 ug/kg을 주사하여 배란을 준비하였음
- 호르몬이 주사된 친어는 약 48시간 이후부터 복부를 압박하여 채란 및 채정한 후, 건식법으로 수정을 유도하였음

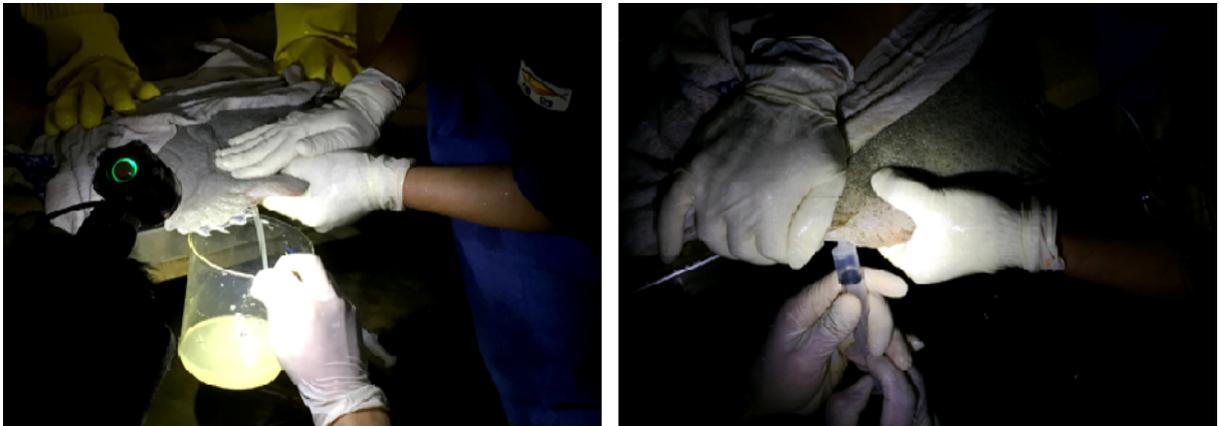


그림 121. 터봇 암컷의 인공 채란 및 수컷의 인공 채정 과정

- 난자와 정자를 인공 채란 후 해수로 깨끗하게 세란(washing)을 하며 완료 후에는 층이 분리될 수 있도록 약 20분 정도 waiting(아래층의 경우 대부분 사란이며 부상란의 경우 생존개체로 간주함)



그림 122. 수정란 채란 과정

- 3배체 생산을 위해 저온 자극 및 압력 자극을 비교 분석 진행함
  - 2배체: 15°C, 5분간 수정 및 동일조건에서 부화를 진행
  - 3배체 저온 자극 : 15°C, 5분간 수정 후 0°C, 20분간 저온 처리
  - 3배체 압력 자극: 6°C, 30분 & 15°C, 5분(2개 조건) 반응



그림 123. 3배체 생산에 활용한 저온 및 압력 자극 장비

- 3배체 저온 자극은 수정란을 0°C 에서 20분간 cold shock을 가한 후 15°C 에서 부화시키며 3배체 압력 자극은 압력기 내부 해수 온도를 실험온도(6°C, 15°C)로 유지한 상태에서 수정란을 추가하여 500bar에서 5분간 압력을 가함

표 58. 티벳 3배체 수정란 비교 생산 조건

구분		자극 조건	비 고
3배체	저온 자극	수정 5분 후 0°C 해수에 20분간 저온 자극	15°C
	압력 자극(6°C)	6°C 에서 수정 후 30분 후 500 kg /cm2의 압력으로 5분간 자극	
	압력 자극(15°C)	수정 30분 후 500 kg /cm2의 압력으로 5분간 자극	15°C
2배체(대조군)		통상 적인 수정 및 세란	15°C

- 압력 반응이 끝나고 압력기에 압력을 뺀 뒤 3배체 압력 자극군을 꺼내어 미리 준비해둔 실험 온도(6°C, 15°C)의 해수에 넣고 부화를 위해 15°C로 옮김
- 부화 반응이 끝난 후 3배체 부화율을 확인하기 위해 부상된 수정란을 각 군별로 채취하여 부화율 및 유도율을 확인함
- 3차년도 이후부터 3배체 생산의 최적 조건을 확립하기 위한 연구를 지속적으로 수행하였음

표 59. 터봇 3배체 수정란 비교 생산 조건(3, 4차년도)

2N	3N_P
15°C, 5min 수정 및 부화	15°C, 5min 수정
	압력처리 : 500bar, 5min
	부화 : 15°C

- 압력 자극 방법에 따른 3배체 유도율 방법은 수정 5분 후 500bar에서 5분간 처리함. 고압 처리 후 세란 하면서 불순물과 정자를 제거하고 부상란만 모아 15°C에서 육란 하였음



그림 124. .터봇 3배체 수정란 생산과정

### 3. 터봇 3배체 수정란 확인

- 1차년도 3배체 수정란 확인 방법은 어류의 적혈구 및 Flow cytometry를 이용함
- 어류의 적혈구는 사람과 달리 유핵으로서, 어류 혈액의 채혈 후 Slide 상에서 염색에 의해 적혈구 세포와 핵 크기를 현미경 하에서 측정할 수 있음. 적혈구의 세포, 적혈구 핵에서의 장경과 단경을 사용하여 표면적과 부피를 계산할 수 있음. 따라서 간단한 채혈 후 어체를 죽이지 않고 간편하게 배수화 파악 강점이 있음
- Flow cytometry는 조직이나 적혈구를 사용하여 염색 종류에 따라 자외선 lamp나 laser lamp로 배수체를 파악할 수 있음. 수만 개의 세포를 단시간에 측정할 수 있기 때문에 최근에 많이 이용되고 있으며, 어체를 죽이지 않고 파악할 수 있으며 세포가 갖는 모자이크 개체도 간단히 검출할 수 있음
- 이외에도 형광현미경 측광법, 인형성부위(NORs:Nuclear organizer regions)파악, Allozyme 표현형 확인 등의 방법이 있음

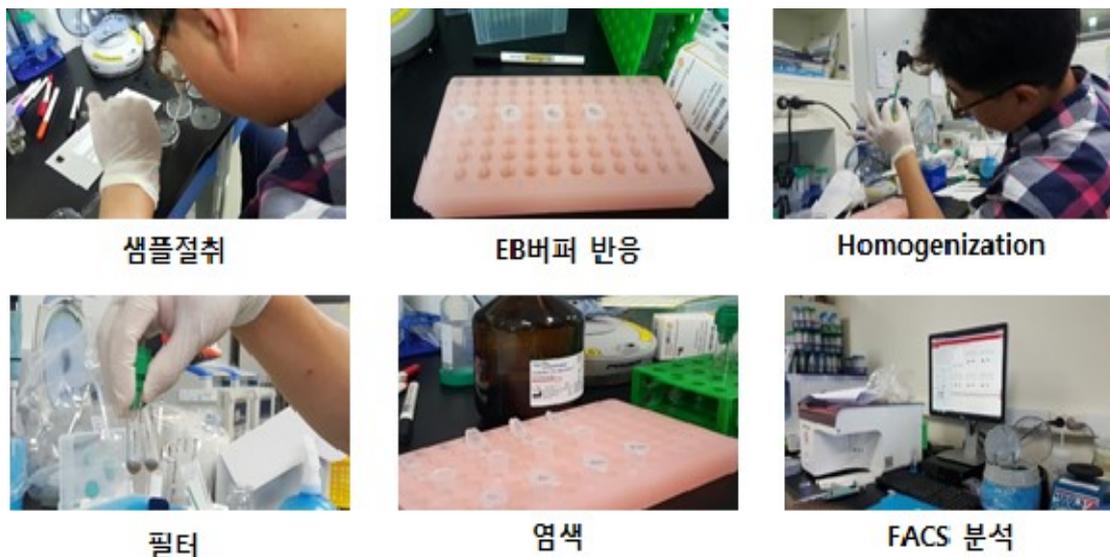


그림 125. Flow cytometry를 활용한 3배체 분석

- 수정 후 2주 정도가 지난 부화자어 개체를 샘플링하여 1세부 연구기관에서 High quality DNA 추출 및 Quality check, 분자마커를 이용한 PCR 및 유전학적 분석, Triploid locus 확인을 진행
- 수정 후 2주 정도가 지난 부화자어 개체를 샘플링하여 High quality DNA 추출 및 Quality check, 분자마커를 이용한 PCR 및 유전학적 분석, Triploid locus 확인을 진행하며 이는 신속하고 정확한 3배체 확인을 위해 microsatellite 마커를 이용한 유전형 분석기법을 이용하였으며 분석 진행 과정은 아래와 같음

표 60. 3배체 확인을 위한 유전형 분석 microsatellite 마커

Marker Name	Sequence(5' to 3')	5' Dye	Motif	Fragment size(bp)
TB_MS01_F	TTTCTCCCCTCTTGCTGTATG	FAM	GT	100-120
TB_MS01_R	GTTTCTTTACAAGTGTGGACTGGAGCTG			
TB_MS02_F	AAGGAAGCCATTGTGTGTGT	FAM	TG	150-174
TB_MS02_R	GTTTCTCCCTGTGAATTTGTCCATCC			
TB_MS03_F	GCCCCTGATTTTAGATAGTAA	FAM	CA	322-370
TB_MS03_R	GTTTCTTGCTGAACAAGATGATGGAT			
TB_MS04_F	CACCAACAACGAAGTCCTCA	VIC	GT	134-172
TB_MS04_R	GTTTCTAGTCCTCCAAATCACATCCA			
TB_MS05_F	ATCCAGGAGAGCAGAGAC	VIC	CA	175-200
TB_MS05_R	GTTTCTGCCACACCTCACTGTAAA			
TB_MS06_F	CCTTGACAGGCTATTGGAAGTA	VIC	AC	286-324
TB_MS06_R	GTTTCTGCACAGGGTCAGAAATGGAG			
TB_MS07_F	AACTGACACAGAGTGGGAGGT	NED	CA	114-182
TB_MS07_R	GTTTCTCTGGTGATTCAACAATCTGCT			
TB_MS08_F	CAGGGTCGAGGGAAGAG	NED	GT	214-225
TB_MS08_R	GTTTCTGCCAACTGCCTGCTAGTA			
TB_MS09_F	CCGCTGAACAAACACGATAA	NED	GA	226-260
TB_MS09_R	GTTTCTGGCCATTACAGATAACC			
TB_MS10_F	TGTGAATGTCTTCCTGTGGTG	PET	CA	135-188
TB_MS10_R	GTTTCTGCCGATAGTTGTTTGTGTCTG			
TB_MS11_F	TGATTCCCGCTGATGTATGA	PET	TG	227-260
TB_MS11_R	GTTTCTTTGACATTGTTTCGCTCCAGAA			

- 11개의 마커를 포함한 Multiplex PCR set을 이용하여 PCR을 실시하였으며 PCR 시약의 조성으로는 하나의 샘플 당 DNA template의 경우 1ul(100ng/ul), 10X buffer 1.5ul, dNTP(2mM) 1.5ul, Hot-taq polymerase(5U/ul) 0.3ul를 혼합하였으며, dye가 포함된 Forward primer의 경우 TB\_MS01\_F는 0.1ul, TB\_MS02\_F는 0.2ul, TB\_MS03\_F는 0.3ul, TB\_MS04\_F는 0.2ul, TB\_MS05\_F는 0.25ul, TB\_MS06\_F는 0.3ul, TB\_MS07\_F는 0.15ul, TB\_MS08\_F는 0.2ul, TB\_MS09\_F는 0.3ul, TB\_MS10\_F는 0.1ul, TB\_MS11\_F는 0.2ul을 넣고, 동일량의 Reverse primer를 함께 섞은 후 primer mixture를 만들어서 혼합함
- PCR 조건은 touch-down PCR 방식으로 온도를 낮춰주며 annealing temperature에 따른 영향을 최소화함. 95°C에서 10분간 주형 DNA를 변성시킨 후, 첫 번째 단계로 94°C에서 1분; 58°C에서 1분 및 72°C에서 1분을 5 cycle로 반복 수행하고, 두 번째 단계로 94°C에서

1분; 57°C 에서 1분 및 72°C 에서 1분을 5 cycle, 세 번째로 94°C 에서 1분; 56°C 에서 1분 및 72°C 에서 1분을 25 cycle로 반복 수행하고 마지막으로 65°C 에서 30분간 final extension을 시켜 준 후 4°C 에 보관함

- 유전자형 분석(Genotyping analysis)의 경우 증폭이 완료된 PCR 산물은 30X dilution 시킨 후, 증폭산물 1µl와 GeneScan 500 LIZ dye Size Standard (ThermoFisher Scientific, USA) 및 Hi-Di Formade (Applied Biosystems, USA) 혼합물을 1:9로 희석하여 분석을 위한 시료로 사용하였으며 각 마커에 대한 표준 allele ladder를 제작하여 GeneMapper version 4.0 (ThermoFisher Scientific, USA)등 분석프로그램을 이용하여 모든 개체를 scoring하고 크기와 표식자의 종류별로 분류하여 자료를 취합하고 분석함

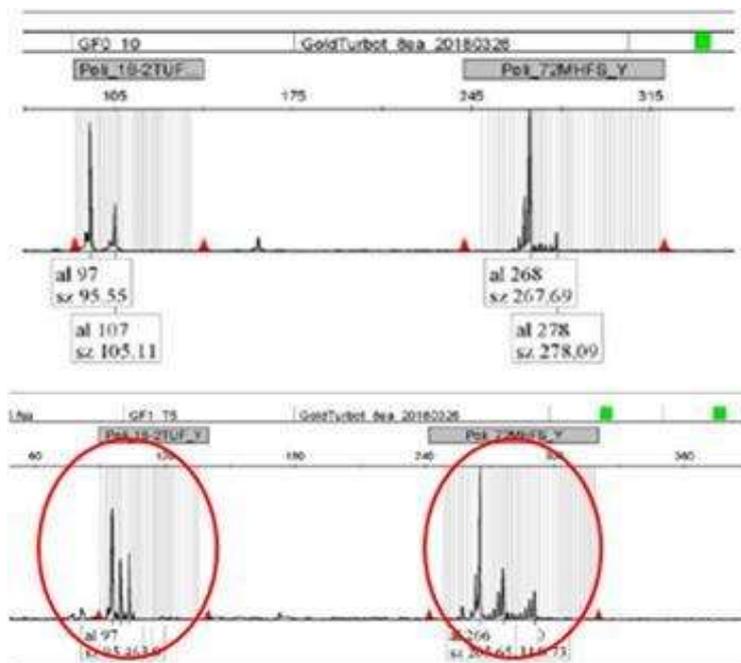


그림 126. 유전형 분석을 활용한 3배체 분석 비교

- 본 과제에서 터봇의 저온 자극 및 압력 자극을 통한 3배체의 11개의 loci에서 유전형 분석을 진행한 결과는 아래와 같음

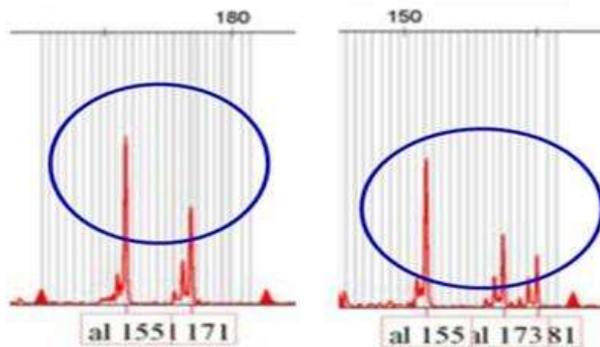


그림 127. 3배체 유전형 분석 결과

표 61. 저온 자극 및 압력 자극의 3배체 유도율 비교

구 분		부상률(%)	수정률(%)	부화율(%)	3배체 확인률(%)
1차년도 (2017)	2배체	78	60	72	
	3배체 저온 자극	67	55	52	
2차년도 (2018)	2배체	71.0	59.1	21.6	-
	3배체 저온 자극		52.0	18.4	46.6
	3배체 압력 자극		50.0	19.2	66.6

- 3, 4차년도 3배체 유도 실험에서는 2차년도 연구에서 저온처리보다 압력 자극에서 약 20% 정도 3배체 유도율이 높았기 때문에 3차년도 이후부터 압력 자극을 이용하여 3배체 유도 연구를 진행하였음

#### 4. 돌삼다보어 3배체 연구 결과

표 62. 연차별 부상률, 수정률 및 부화율 비교

구 분		부상률(%)	수정률(%)	부화율(%)	3배체 확인율(%)
1차년도 (2017)	2배체	78	60	72	
	3배체 저온 자극	67	55	52	
2차년도 (2018)	2배체	71.0	59.1	21.6	-
	3배체 저온 자극		52.0	18.4	46.6
	3배체 압력 자극		50.0	19.2	66.6
3차년도 (2019)	2배체	69.2	46.0	61.1	-
	3배체 압력 자극		42.2	23.3	78.4
4차년도 (2020)	2배체	49.1	36.7	34.1	-
	3배체 압력 자극		27.3	29.3	79.3

- 1차년도에서부터 3차년도까지의 경우 저온 자극 방법, 압력 자극 방법을 비교 검토하고자 하였으나, 저온 자극 방법에서는 수정란이 스트레스, 사육수의 오염 등으로 종자까지 생산하는 데 실패하였음
- 고압 자극 방법에서는 산란 시기 후기에 실험하여 난질이 안 좋아 수정률, 부화율이 낮아 대량생산에 실패하여 종자생산까지는 하지 못하였으나 2차년도에 비해 3차년도에서는 3배체 유도율은 높아졌음
- 4차년도에는 들삼다보어 F1세대 친어를 이용하여 터봇 3배체 수정란 생산방법 및 종자 평가를 하였음
- 3, 4차년도 압력 자극을 통한 터봇 3배체 유도 연구 결과, 평균적으로 약 78.8%의 3배체 유도율을 확인할 수 있었음
- 본 연구는 터봇의 우량 유전자원 확인과 그에 따른 대량생산 기술력 획득과 안정적인 3배체 생산 가능성을 확인하는 것이며, 향후 터봇의 3배체 생산과 그 외의 모든 어류의 3배체 생산에 대한 좋은 기초자료가 될 것으로 판단됨
- 터봇의 3배체 생산에는 저온과 압력을 사용하여 생산할 수 있으며 효율은 압력이 최종적으로 약 30% 더 높은 것으로 확인되었으며 또한, 3배체 터봇의 대량생산 가능성을 확인하였고 그의 생존율과 생산 효율성을 확인하였음
- 또한, 본 연구를 통해 3배체의 확인을 위한 신속한 유전자 검사법을 확립하여 생산 초기에 3배체 여부를 확인하여 3배체 유도율의 신속한 판단이 이루어질 수 있게 기초를 확립함
- 2차년도 연구 방법과 3차년도 연구 방법을 비교해 볼 때, 수정란의 난질 및 연구진의 기술적 숙련도가 상승함에 따라 3차년도의 터봇 3배체 수정란 유도율이 향상된 것으로 판단됨
- 2~4차년도 터봇 3배체 수정란 생산을 통해 저온자극보다 압력자극에서 보다 높은 유도율을 확인하였으며, 2차년도 압력자극 방법에서 66%의 유도율을 보인 결과에 반해 4차년도에 약 80%에 가까운 3배체 유도율을 확인함(표. 62). 또한, 3배체 확인을 위한 신속한 유전자 검사법을 확립하여 3배체 수정란 유도율 판단 방법을 확립함
- 터봇 3배체 수정란 생산 및 부화율 향상을 위해 압력 자극 등 여러 가지 실험 방법 및 실험 조건 등 후속 연구를 진행하여 효과적인 3배체 수정란 생산 방법을 확립하고자 함

## 10절. 국내외 터봇 시장 확대를 위한 마케팅

### 1. 국내외 터봇 시장 확대를 위한 마케팅

- 돌삼다보어 종자의 마케팅 활동을 위하여 국내외 박람회 참가, 설명회 개최 및 수출상담회에 참가하여 국내외 바이어들에게 돌삼다보어 종자의 우수성을 홍보하고 직접적인 판매계약을 위한 업무 협의를 진행하였음
- 3차년도(2019년) 연구결과 F1세대 돌삼다보어(2018년 생산)는 0세대 친어집단 대비 약 10%, 중국산 터봇 대비 약 15 ~ 20%(국내 및 중국 현지 양식장 성장 비교)의 빠른 성장을 확인하였으며, 이를 토대로 마케팅 자료로 활용하였음
- 국내외 박람회의 경우 중국 홍콩, 부산박람회의 연속적인 참가를 통해 회사에서 개발되는 제품의 우수성을 지속적으로 홍보하고, 세대가 거듭될수록 돌삼다보어의 속성장 및 내병성이 강화되어 더욱 생산성이 향상된다는 것을 강조하여 홍보하였음
- 1차년도에는 ‘2017 상해 국제어업식품박람회(국외)’와 ‘2017 부산 국제수산물무역EXPO(국내)’를 참가하여 부스를 운영하고 돌삼다보어 종자의 우수성을 홍보하였음

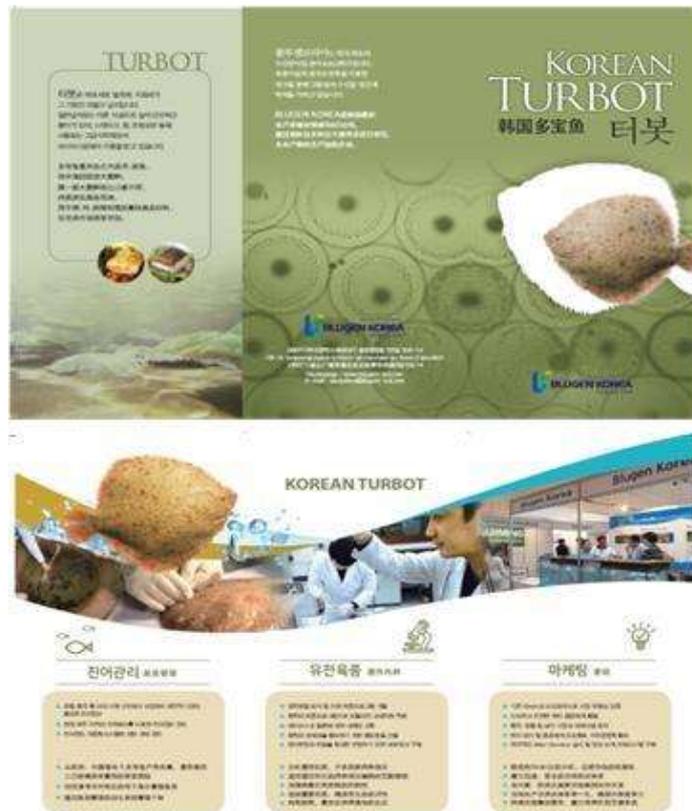


그림 128. 상해 국제수산물식품박람회 홍보용 브로셔



그림 129. 2017년도 부산 국제수산물무역EXPO 참가 및 홍보

- 2차년도에는 ‘2018 상해 국제수산물박람회(국외)’ 와 ‘2018 부산 국제수산물무역EXPO(국내)’ 를 참가하여 종자 홍보 및 업무 협의를 가짐



그림 130. 2018년도 상해 국제수산물박람회 참가 및 홍보



그림 131. 2018년도 부산 국제수산물무역EXPO 참가

- 3차년도에는 ‘2019 청도 어업박람회(국외)’ 와 ‘2019 부산 국제수산EXPO’ 에 참가하여 한국형 터봇 돌삼다보어의 우수성을 홍보하였음



그림 132. 2019년도 중국 청도 어업박람회 참가



그림 133. 2019년도 부산 국제수산EXPO 참가

- 4차년도에는 국내외 박람회 참가를 통해 돌삼다보어의 우수성에 대한 홍보계획을 수립하였으나, 2020년 1월부터 발생한 COVID-19 사태에 따른 청도 어업박람회가 취소됨에 따라 국내 ‘2020 부산 국제수산EXPO’에 참가함

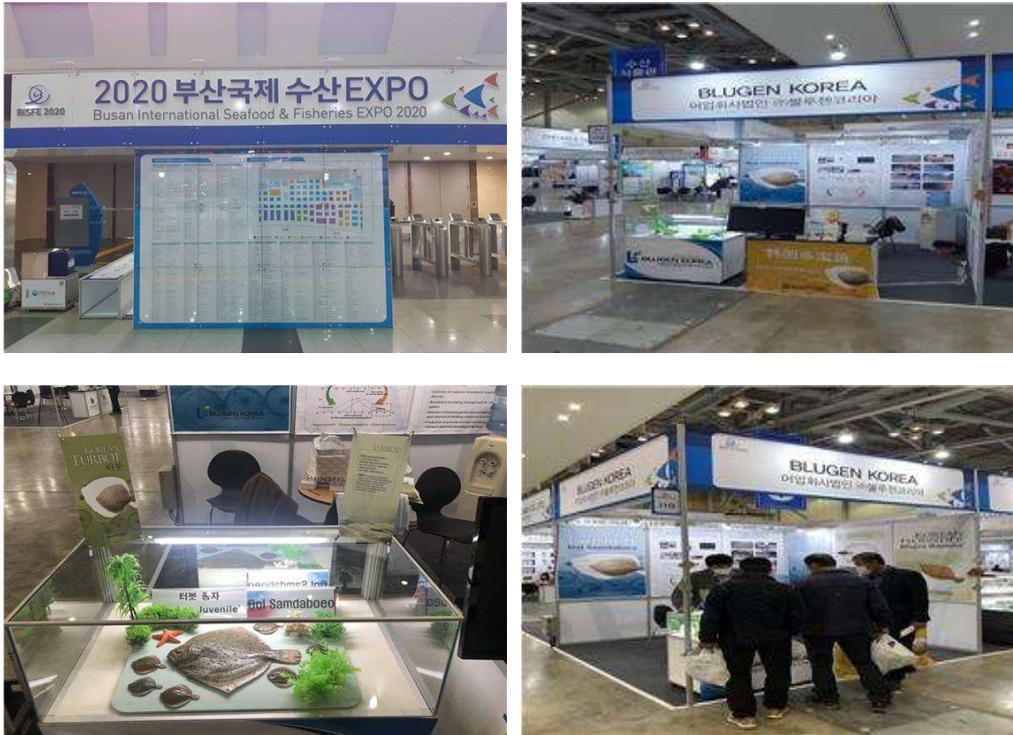


그림 134. 2020 부산 국제수산EXPO 참가

- 5차년도에는 ‘2021 부산 국제수산EXPO’에 참가하여 한국형 터봇 돌삼다보어의 우수성을 홍보하였음
- ‘2021 부산 국제수산EXPO’는 국내 최대 국제 양식 박람회로 참가하여 돌삼다보어 종자를 홍보하고 수출을 위한 바이어를 만나는 기회이며, 돌삼다보어 종자 및 성어 양식에 관심 있는 국내외 파트너를 모색함

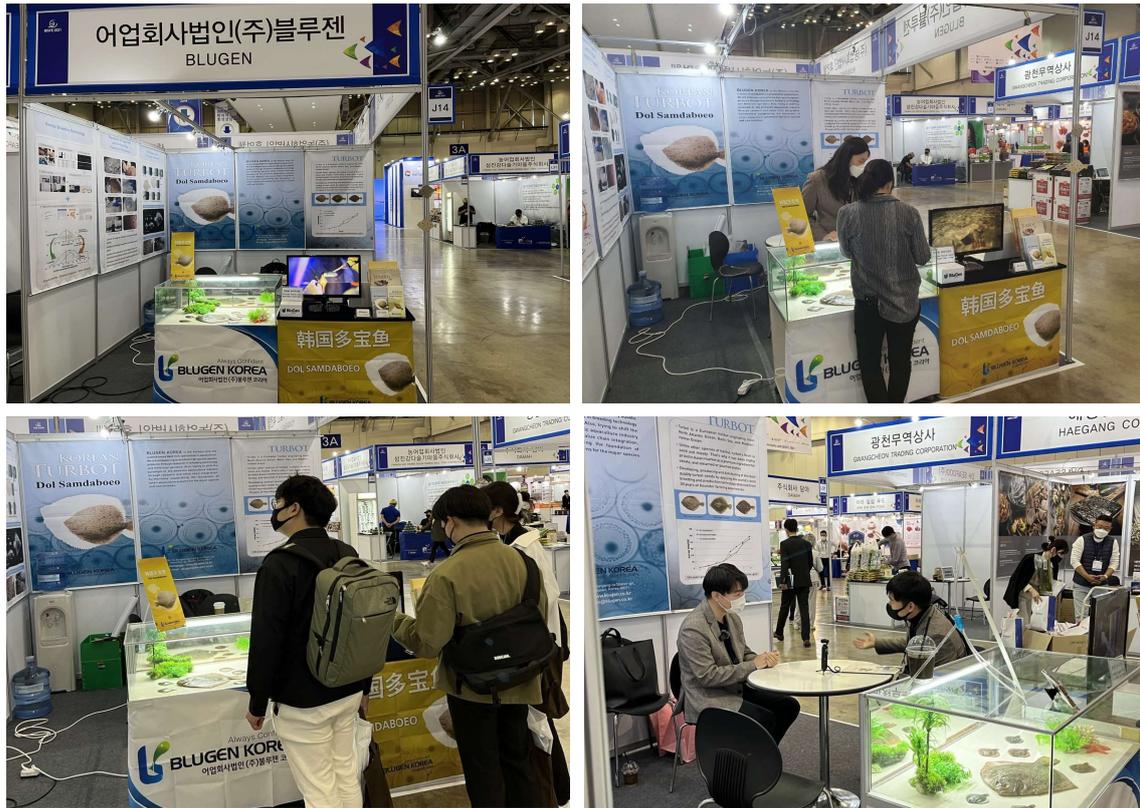


그림 135. 2021년도 부산 국제수산EXPO 참가

- 국내 시장의 경우 중국 터봇에 대한 인식이 좋지 못하고, 한국 터봇의 입식을 원하는 양식업체가 많아지고 있으며, 넙치와 유사한 터봇의 양식에 관심을 가지는 업체가 점차적으로 늘어나면서 국내에서의 유통체계 확립은 어렵지 않은 것으로 판단함
- 중국 시장의 경우 돌삼다보어의 우수성을 확인한 기존 업체들은 전반적으로 재구매를 희망하여 그에 따른 재구매율도 점차 높아지고 있으며, 지속적으로 신규 업체 모집을 위한 업무 협의 및 현지 수산박람회 참가를 통한 홍보활동을 유지한다면 중국 시장에서 점차적으로 판매망을 늘려나갈 수 있을 것으로 예상됨
- 본 연구에서 국내외 터봇시장 확대를 위해 2단계 1~5차년 동안 국내에서 약 3억 9백만 원의 매출 목표치를 달성하였으며, 종자 수출 533.9만 달러의 성과를 거두었음. 또한, 국내외 터봇시장 마케팅 홍보를 위해 2단계 1~5차년 동안 국내에서 5건, 국외 2건의 박람회(EXPO)에 참가하여 돌삼다보어의 우수성을 홍보하였음.
- 또한, 3차년도에 COVID-19의 상황 발생으로 4~5차년 동안 국외 홍보 및 시장 확대가 부족하였지만 향후 지속적인 마케팅과 홍보를 통해 돌삼다보어의 우수성을 홍보할 예정임

## 11절. 연구개발성과

성과목표	품종 및 브랜드 개발		특허		논문		진어 (모패, 계통주) 확보	유전자원		유통 채널 구축	해외 기지 구축	기술 실시 (이전)	MOU 체결수	종자 수출액 (만달러)	국내 매출액 (백만원)	홍보	박람회 참가
	출원	등록	출원	등록	SCI	비 SCI		수집	등록								
<b>최종목표</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>700</b>		<b>8</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>578</b>	<b>190</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
2017	목표	-	-	-	-	-	140		2	1	1	1	1	40	30	1	1
	실적	-	4	-	-	-	590		10	1	1	-	1	43.7	15	1	2
2018	목표	1	-	1	-	1	140		4	1	-	-		70	30	1	1
	실적	1	-	1	-	1	140		10	1	-	2		77.3	58	3	2
2019	목표		1		1	1	140		2	1				110	40	1	1
	실적		1		1	-	450		10	1				127.8	40.8	1	1
2020	목표					1	140			1				150	40	1	1
	실적					-	200			1				114.7	195.8	1	1
2021	목표					1	140			1				208	50		1
	실적						140			1				170.4			1
<b>최종 실적</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>-</b>	<b>2</b>	<b>1520</b>		<b>30</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>533.9</b>	<b>309.6</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
달성률 (%)	100	>100	100	100	-	100	>100		>100	100	100	>100	100	100<	>100	>100	>100

### 1. 논문개제 성과

[2차년도]

논문(국내외 전문학술지) 개제							
번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)
1	Evaluation of Genetic Diversity and Population Genetic Parameters of Farmed Turbot Species ( <i>Scophthalmus maximus</i> ) from France, Turkey, and Korea	Genetics of Aquatic Organisms	한지성의 4명	2(1-6)	Turkey	Central Fisheries Research Institute	비SCI

[4차년도]

논문(국내외 전문학술지) 개제							
번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)
1	한국 육종터봇 ( <i>Scophthalmus maximus</i> )의 성장률 비교 분석	한국수산과학회지	김민성의 7명	53(4)	한국	한국수산과학회	비SCI

## 2. 특허 성과

지식재산권									
구 분	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등 록			기 타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
발명특허	터봇 친자 식별용 유전자 마커 및 이를 이용한 친자 확인 방법	한국	(주)블루 루젠코 리아	2018. 05.29	10-2018 -0061242	(주)블루 젠코리아	2019. 12.27.	10-206245 2	

## 3. 품종 및 브랜드 출원

[1차년도]

세부적으로 전부(건별로)기록하며, 국외인 경우 반드시 국명을 기록합니다]									
구 분	품종 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등 록			기 타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
상표 등록	돌삼다보어 (Dol Samdaboero)	국내	(영) 해연	2016. 09. 07	40-2016- 0069327	(영) 해연	2017. 05. 10	401251642 0000	제29류
상표 등록	돌삼다보어 (Dol Samdaboero)	국내	(영) 해연	2016. 09. 07	40-2016- 0069331	(영) 해연	2017. 05. 10	401251643 0000	제31류
상표 등록	돌삼다보어 (Dol Samdaboero)	중국	Haeyeon Fish Farm	2016. 09. 07	21241607	Haeyeon Fish Farm	2017. 11. 06	21241067	제29류
상표 등록	돌삼다보어 (Dol Samdaboero)	중국	Haeyeon Fish Farm	2016. 09. 07	21241827	Haeyeon Fish Farm	2017. 05. 02	21241827	제31류

[2-3차년도]

세부적으로 전부(건별로)기록하며, 국외인 경우 반드시 국명을 기록합니다]									
구 분	품종 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등 록			기 타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
상표 출원	돌삼다보어 (Dol Samdaboero)	일본	Haeyeon Fish Farm	2018. 06.21	2018-8147 6	Haeyeon Fish Farm	2019. 03.22	6132874	제31류

#### 4. 친어(모패, 계통주) 확보

[1차년도]

친어(모패, 계통주) 확보[확보된 친어 및 모패의 종명을 기록합니다]				
번호	종 명	확보 개체수	주요내용(연령 및 체중)	기 타
1	터봇	140마리	3년생 0세대친어 3.94kg	
2	터봇	450마리	2년생 F1세대 1.29kg	

[2차년도]

친어(모패, 계통주) 확보[확보된 친어 및 모패의 종명을 기록합니다]				
번호	종 명	확보 개체수	주요내용(연령 및 체중)	기 타
1	터봇	140마리	2년생 0세대 친어(평균 2.24kg)	

[3차년도]

친어(모패, 계통주) 확보[확보된 친어 및 모패의 종명을 기록합니다]				
번호	종 명	확보 개체수	주요내용(연령 및 체중)	기 타
1	돌삼다보어	450마리	2년생 F1 친어 (평균 1.02 kg)	

[4차년도]

친어(모패, 계통주) 확보[확보된 친어 및 모패의 종명을 기록합니다]				
번호	종 명	확보 개체수	주요내용(연령 및 체중)	기 타
1	돌삼다보어	200마리	2년생 F1 친어 (평균 0.8 kg)	

## 5. 유전자원

### [1차년도]

세부적으로 전부(건별로)기록						
번호	특성	수집	등록			기 타
			등록인	등록일	등록번호	
1	Microsatellite sequence		한지성		MF924567	
2	Microsatellite sequence		한지성		MF924568	
3	Microsatellite sequence		한지성		MF924569	
4	Microsatellite sequence		한지성		MF924570	
5	Microsatellite sequence		한지성		MF924571	
6	Microsatellite sequence		한지성		MF924572	
7	Microsatellite sequence		한지성		MF924573	
8	Microsatellite sequence		한지성		MF924574	
9	Microsatellite sequence		한지성		MF924575	
10	Microsatellite sequence		한지성		MF924576	

### [2차년도]

세부적으로 전부(건별로)기록						
번호	특성	수집	등록			기 타
			등록인	등록일	등록번호	
1	Microsatellite sequence		한지성	2018.04.11.	MH185762	
2	Microsatellite sequence		한지성	2018.04.11.	MH185763	
3	Microsatellite sequence		한지성	2018.04.11.	MH185764	
4	Microsatellite sequence		한지성	2018.04.11.	MH185765	
5	Microsatellite sequence		한지성	2018.04.11.	MH185766	
6	Microsatellite sequence		한지성	2018.04.11.	MH185767	
7	Microsatellite sequence		한지성	2018.04.11.	MH185768	
8	Microsatellite sequence		한지성	2018.04.11.	MH185769	
9	Microsatellite sequence		한지성	2018.04.11.	MH185770	
10	Microsatellite sequence		한지성	2018.04.11.	MH185771	

[3차년도]

세부적으로 전부(건별로)기록						
번호	특성	수집	등록			기 타
			등록인	등록일	등록번호	
1	Microsatellite sequence		박선희, 곽주리	2019.09.27.	MN516806	
2	Microsatellite sequence		박선희, 곽주리	2019.09.27.	MN516807	
3	Microsatellite sequence		박선희, 곽주리	2019.09.27.	MN516808	
4	Microsatellite sequence		박선희, 곽주리	2019.09.27.	MN516809	
5	Microsatellite sequence		박선희, 곽주리	2019.09.27.	MN516810	
6	Microsatellite sequence		박선희, 곽주리	2019.09.27.	MN516811	
7	Microsatellite sequence		박선희, 곽주리	2019.09.27.	MN516812	
8	Microsatellite sequence		박선희, 곽주리	2019.09.27.	MN516813	
9	Microsatellite sequence		박선희, 곽주리	2019.09.27.	MN516814	
10	Microsatellite sequence		박선희, 곽주리	2019.09.27.	MN516815	

6. 국내매출액

[1차년도]

국내 종자 판매 실적			
번호	일자	판매처	매출액(천원)
1	17.08.10	신산수산	6,000
2	17.08.11	대형수산	6,000
3	17.09.09	무진수산	3,000

[2차년도]

국내 종자 판매 실적			
번호	일자	판매처	매출액(천원)
1	2018.06.22.	해맑음수산	22,000
2	2018.07.09.	우성수산	20,000
3	2018.08.01.	갈릴리수산	14,000
4	2018.09.20.	해암수산	2,000

[3차년도]

국내 종자 판매 실적			
번호	일자	판매처	매출액(천원)
1	2019.08.27.	중앙수산	20,800
2	2019.08.28.	재영수산	10,000
3	2019.09.03.	홍진수산	10,000

[4차년도]

국내 종자 판매 실적			
번호	일자	판매처	매출액(천원)
1	2020.05.11.	우성수산	24,000
2	2020.05.19.	신양수산	18,400
3	2020.05.27.	대머들수산	48,000
4	2020.06.02.	행원수산	10,000
5	2020.07.17.	해맑음수산	20,000
6	2020.07.17.	행원수산	22,400
7	2020.07.21.	태양수산	20,000
8	2020.08.06.	어업회사법인 무진(주)	33,400

[5차년도]

국내 종자 판매 실적			
번호	일자	판매처	매출액(천원)
9	2021. 01 .29	청해수산	25,301

7. 종자수출액/수입대체 효과

[1차년도]

종자수출액(USD)				
번호	수출품목/수입대체 품목	수출액		
		(판매)일	수출국	수출금액(\$)
1	돌삼다보어 종자	2017.12.03.	중국	37,441.1
2	돌삼다보어 종자	2017.12.04.	중국	21,840.6
3	돌삼다보어 종자	2017.12.05.	중국	15,610.9
4	돌삼다보어 종자	2017.12.04.	중국	28,099.6
5	돌삼다보어 종자	2017.12.04.	중국	21,815.3
6	돌삼다보어 종자	2017.12.06.	중국	62,395.0
7	돌삼다보어 종자	2017.12.10.	중국	18,702.2
8	돌삼다보어 종자	2017.12.09.	중국	43,601.6
9	돌삼다보어 종자	2017.12.11.	중국	46,837.8
10	돌삼다보어 종자	2017.12.07.	중국	31,244.4
11	돌삼다보어 종자	2017.12.07.	중국	78,272.9
12	돌삼다보어 종자	2017.12.09.	중국	31,448.6

[2차년도]

종자수출액(USD)				
번호	수출품목/수입대체 품목	수출액		
		수출(판매)일	수출국	수출금액(\$)
1	돌삼다보어 종자	2018.08.14.	중국	35,995
2	돌삼다보어 종자	2018.08.14.	중국	32,195
3	돌삼다보어 종자	2018.08.30.	중국	55,833
4	돌삼다보어 종자	2018.09.03.	중국	27,089
5	돌삼다보어 종자	2018.09.01.	중국	60,225
6	돌삼다보어 종자	2018.09.02.	중국	45,389
7	돌삼다보어 종자	2018.09.03.	중국	39,200
8	돌삼다보어 종자	2018.09.05.	중국	45,316
9	돌삼다보어 종자	2018.09.05.	중국	45,315
10	돌삼다보어 종자	2018.09.06.	중국	42,132
11	돌삼다보어 종자	2018.10.15.	중국	46,414
12	돌삼다보어 종자	2018.11.26.	중국	74,416
13	돌삼다보어 종자	2018.11.26.	중국	74,416
14	돌삼다보어 종자	2018.12.12.	중국	74,689
15	돌삼다보어 종자	2018.12.10.	중국	74,985

[3차년도]

종자수출액(USD)				
번호	수출품목/수입대체 품목	수출액		
		수출(판매)일	수출국	수출금액(\$)
1	돌삼다보어 종자	2019.07.15.	중국	129,014
2	돌삼다보어 종자	2019.07.11.	중국	75,008
3	돌삼다보어 종자	2019.07.19.	중국	30,003
4	돌삼다보어 종자	2019.07.29.	중국	28,503
5	돌삼다보어 종자	2019.08.17.	중국	116,787
6	돌삼다보어 종자	2019.08.23.	중국	87,590
7	돌삼다보어 종자	2019.08.25.	중국	72,992
8	돌삼다보어 종자	2019.09.01.	중국	86,944
9	돌삼다보어 종자	2019.09.05.	중국	86,944
10	돌삼다보어 종자	2019.09.10.	중국	86,944
11	돌삼다보어 종자	2019.09.16.	중국	101,435
12	돌삼다보어 종자	2019.09.20.	중국	57,963
13	돌삼다보어 종자	2019.09.23.	중국	57,963
14	돌삼다보어 종자	2019.09.25.	중국	86,944
15	돌삼다보어 종자	2019.09.28.	중국	86,944
16	돌삼다보어 종자	2019.09.29.	중국	86,944

[4차년도]

종자수출액(USD)				
번호	수출품목/수입대체 품목	수출액		
		수출(판매)일	수출국	수출금액(\$)
1	돌삼다보어 종자	2020.09.03.	중국	135,974
2	돌삼다보어 종자	2020.09.03.	중국	120,866
3	돌삼다보어 종자	2020.09.04.	중국	120,746
4	돌삼다보어 종자	2020.09.04.	중국	120,746
5	돌삼다보어 종자	2020.09.08.	중국	105,726
6	돌삼다보어 종자	2020.09.08.	중국	120,830
7	돌삼다보어 종자	2020.09.11.	중국	120,758
8	돌삼다보어 종자	2020.09.11.	중국	120,758
9	돌삼다보어 종자	2020.09.14.	중국	90,563
10	돌삼다보어 종자	2020.09.14.	중국	90,563

[5차년도]

종자수출액(USD)				
번호	수출품목/수입대체 품목	수출액		
		수출(판매)일	수출국	수출금액(\$)
1	돌삼다보어 종자	2021.02.26.	중국	77,526
2	돌삼다보어 종자	2021.02.26.	중국	77,526
3	돌삼다보어 종자	2021.02.26.	중국	77,526
4	돌삼다보어 종자	2021.02.26.	중국	77,526
5	돌삼다보어 종자	2021.03.03.	중국	69,536
6	돌삼다보어 종자	2021.03.03.	중국	77,262
7	돌삼다보어 종자	2021.03.03.	중국	77,262
8	돌삼다보어 종자	2021.09.06.	중국	123,964
9	돌삼다보어 종자	2021.09.06.	중국	123,964
10	돌삼다보어 종자	2021.09.07.	중국	139,584
11	돌삼다보어 종자	2021.09.07.	중국	108,565
12	돌삼다보어 종자	2021.09.10.	중국	123,859
13	돌삼다보어 종자	2021.09.17.	중국	124,471
14	돌삼다보어 종자	2021.09.17.	중국	124,471
15	돌삼다보어 종자	2021.09.17.	중국	124,471
16	돌삼다보어 종자	2021.09.28.	중국	92,900
17	돌삼다보어 종자	2021.09.28.	중국	92,900

## 8. 기술실시

[2차년도]

기술실시					
번호	유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (당해연도 발생액)
1	직접실시	개발 마커를 이용한 친자확인 및 선발육종으로 터벗 우량종자 생산	어업회사법인 (주)블루젠코리아	2018.09.21.	감면(0원)
2	직접실시	분자 마커를 활용한 유전적 다양성 유지 및 우수 친어관리 기술	어업회사법인 (주)블루젠코리아	2018.09.21.	감면(0원)

[5차년도]

기술실시					
번호	유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (당해연도 발생액)
1	통상실시	돌삼다보어 친어관리 및 종자 생산기술	마린씨드	2021.04.01	-

## 9. 해외기지 구축

[1차년도]

국내 종자 판매 실적				
번호	이름	계약일자	위치	활용년도
1	쑤양다오린창 양식장	2017.04.16.	중국 산둥성 위해시 장춘진 (山东省威海市 张村镇)	2017~

## 10. 마케팅 전략수립 보고서

[1차년도]

기타 활용 및 홍보실적(단행본 발간, CD 제작 등)			
번호	일자	활용명칭	활용내역
1	2017.08.19.	돌삼다보어 홍보 브로셔 제작(중문)	2017 상해 국제수산물박람회
2	2017.11.01.	돌삼다보어 홍보 브로셔 제작(영문)	2017 부산 국제수산물무역EXPO
3	2017.11.09.	유럽형 넙치 ‘터벗’ 한국형 종자 수출 임박(디지털타임스)	한국 터벗 종자 수출 기사

[2차년도]

기타 활용 및 홍보실적(단행본 발간, CD 제작 등)			
번호	일자	활용명칭	활용내역
1	2018.08.03.	돌삼다보어 관련 홍보 브로셔 제작	2018 상해 국제수산물박람회
2	2018.01.08.	유럽형 넙치 ‘터봇’ 한국형 종자 수출 43만불 판매(미래한국)	한국 터봇 종자 중국 현지 판매 기사
3	2018.08.07.	한국형 터봇 종자 국내 판매 활성화(헤럴드경제)	한국 터봇 종자 국내 보급 기사
4	2018.10.04.	블루젠코리아. 한국형 터봇 ‘돌삼다보어’ 중국에 종자 수출(파이낸셜투데이)	돌삼다보어 종자 판매 기사

[3차년도]

기타 활용 및 홍보실적(단행본 발간, CD 제작 등)			
번호	일자	활용명칭	활용내역
1	2019.08.28.	돌삼다보어 홍보 브로셔 제작	2019 청도 및 부산 수산물박람회 활용
2	2019.09.18.	한국형 터봇 ‘돌삼다보어’ 국내 보급 시작(디지털타임스)	돌삼다보어 국내 보급 기사

[4차년도]

기타 활용 및 홍보실적(단행본 발간, CD 제작 등)			
번호	일자	활용명칭	활용내역
1	2020.05.29.	한국형 터봇 ‘돌삼다보어’ 보급 활발. 국내 자급률 향상 도모	돌삼다보어 국내 보급 기사

11. 기타(시험생산 등)

[1차년도]

기타(양해각서 체결)			
번호	일자	계약내용	계약자
1	2017.10.01.	중국 현지 종자 사업 관련 협약	(주)블루젠코리아, 해광수산, 위해성산무역유한공사

기타(박람회 참가)			
번호	일자	행사명	참가자
1	2017.08.19.-2017.08.21.	2017 상해 국제수산물식품박람회	(주)블루젠코리아, (영)해연
2	2017.11.08.-2017.11.10.	2017 부산 국제수산물무역EXPO	(주)블루젠코리아

[2차년도]

기타(양해각서 체결)			
번호	일자	계약내용	계약자
1	2018.07.18.	중국 현지 종자 사업 관련 협약	(주)블루젠코리아, 위해성산무역유한공사
2	2018.05.01.	중국 현지 종자 위탁판매 관련 협약	(주)블루젠코리아, 위해윤도무역유한공사

기타(박람회 참가)			
번호	일자	행사명	참가자
1	2018.10.31.-2018.11.02.	2018 부산 국제수산물무역EXPO	(주)블루젠코리아

[3차년도]

기타(박람회 참가)			
번호	일자	행사명	참가자
1	2019.10.30.-2019.11.01	2019 청도 국제어업박람회	블루젠코리아
2	2019.11.06.-2019.11.08.	2019 부산 국제수산물EXPO	블루젠코리아

[4차년도]

기타(박람회 참가)			
번호	일자	행사명	참가자
1	2020.11.05.-2020.11.07.	2020 부산 국제수산물EXPO	블루젠코리아

[5차년도]

기타(박람회 참가)			
번호	일자	행사명	참가자
1	2021.11.03.-2020.11.05.	2021 부산 국제수산물EXPO	블루젠코리아

[1차년도]

기타[1차년도에 시험생산된 종자 정보를 기록합니다]				
번호	종 명	생산량	주요내용	기 타
1	터봇 수정란 (2배체)	15,000cc	연구 및 자체 사육 공동 연구기관 분양 종자 업체 분양	
2	터봇 수정란 (3배체)	3,000cc	연구 및 자체 사육 공동 연구기관 분양 종자 업체 분양	

[2차년도]

기타[2차년도에 시험생산된 종자 정보를 기록합니다]				
번호	종 명	생산량	주요내용	기 타
1	터봇 수정란	11.460cc	연구 및 자체 사육 공동 연구기관 분양	

[3차년도]

기타[3차년도에 시험생산된 종자 정보를 기록합니다]				
번호	종 명	생산량	주요내용	기 타
1	터봇 수정란	16,380cc	연구 및 자체 사육 공동 연구기관 분양	

[4차년도]

기타[4차년도에 시험생산된 종자 정보를 기록합니다]				
번호	종 명	생산량	주요내용	기 타
1	터봇 수정란	9,350cc	연구 및 자체 사육 공동 연구기관 분양	

[5차년도]

기타[4차년도에 시험생산된 종자 정보를 기록합니다]				
번호	종 명	생산량	주요내용	기 타
1	터봇 수정란	23,585cc	연구 및 자체 사육 공동 연구기관 분양	

[1차년도]

기타(유통채널 구축)				
번호	일자	업체명	주요내용	기타
1	2017.10.01.	위해성산무역유한공사	중국 터봇 사업화 관련	3차 양해각서 (블루젠코리아, 해광수산)

[2차년도]

기타(유통채널 구축)				
번호	일자	업체명	주요내용	기타
1	2018.05.01.	위해윤도무역유한공사	중국 터봇 사업화 관련	

[3차년도]

기타(유통채널 구축)				
번호	일자	업체명	주요내용	기타
1	2019.05.01.	위해윤도무역유한공사	중국 터봇 사업화 관련	

[4차년도]

기타(유통채널 구축)				
번호	일자	업체명	주요내용	기타
1	2020.05.01.	위해윤도무역유한공사	중국 터봇 사업화 관련	

[5차년도]

기타(유통채널 구축)				
번호	일자	업체명	주요내용	기타
1	2021.05.01.	위해윤도무역유한공사	중국 터봇 사업화 관련	

## 12절. 연구결과

### 1. 기술적 성과

- 본 과제에서는 유전체 육종기술을 개발하였으며, 이는 개체 및 혈연관계에 있는 개체의 표현형 값을 활용해 육종핵집단을 선발하던 기존의 방식에서 벗어나 유전변이를 마커를 활용하여 유전체 육종가를 예측함으로써 유전적 개량을 극대화시킴.
- 또한, 유전체 정보를 활용하여 속성장·체색·내병성과 관련된 SNP 마커 선발 및 SNP chip 제작하여 유전체 육종기술을 확립할 수 있음
- 육종핵집단 후보군에 PIT chip을 삽입하여 개체관리 시스템을 운영하였으며, 성장, 고수온 내성, 내병성 등 경제적 형질 및 유전적 형질이 우수한 개체를 선발하여 육종핵집단으로 선발·관리함. 이를 통해 유전육종에 활용되는 유전자 풀인 참조집단(reference population)을 확립하고, 시장성이 있는 경제적 형질을 관리하는 시스템을 개발함
- 스페인에서는 1990년부터 터봇의 육종 프로그램 개발이 이루어졌으며, 첫 육종프로그램은 가계를 기반으로 유전력을 추정하여 선발 육종하는 것이었고, 현재 선발 5세대가 육종되고 있음. 이후 100개의 마커를 Marker assisted selection (MAS) 프로그램에 적용하여 성장 및 질병 내성, 성별 결정과 관련된 quantitative trait loci (QTL)에 연결함. 이후 계능 스크리닝하는 방법을 진행하여 현재 다수의 가계에서 성장률 및 성별 결정과 관련된 일련의 지표를 발견하는 등의 육종프로그램이 진행되고 있음. 본 과제에 활용된 기술은 상기 육종 프로그램과 유사한 수준으로 우리나라 터봇 육종기술을 확립하는 성과를 이룩함
- 중국에서 가계육종법을 활용하여 고수온 내성 터봇을 육종하고자 하였음. F1세대와 F2세대를 대상으로 고수온에 어느 정도 인내하는지를 COX 회귀분석으로 검출하였으며, F2세대가 F1세대보다 고수온에 강한 것을 확인함. 본 과제의 고수온 내성 돌삼다보어 품종 또한 우리나라 터봇 육종기술을 향상시키는데 기여함
- 혈통정보 및 표현형 정보를 이용한 전통육종방법은 육종효과를 얻기 위해서는 여러 세대를 거쳐야하기 때문에 오랜 기간이 소요되며, 환경요인이 표현형에 미치는 영향을 배제할 수 없음. 본 과제에서 개발한 유전체 육종 기술은 전통육종연구기술 수준을 첨단 디지털 육종으로 전환하여 터봇 종자산업의 생산성 및 품질을 향상시키는데 기여함
- 본 과제에서는 국내 터봇 우량 종자 품종보호를 위해 3배체 기술을 개발하였음. 다양한 온도 및 압력 자극 조건에서 3배체를 유도한 결과, 수정 30분 후 500bar(7250psi), 5분 조건에서 가장 좋은 유도율인 79.3%가 나타났으며, 최적조건을 확립하였음

- 스코틀랜드에서는 틸라피아를 이용하여 8000psi, 2분의 조건으로 3배체를 유도하였으며 평균 유도율은 84.8%로 나타났음. 본 과제에서 개발된 3배체 생산기술과 유사한 유도율을 보였으며, 3배체 생산 기술을 확립하였음(Hussain et al., 1991)
- 무지개송어를 이용하여 3배체 유도 실험을 진행하였으며, 수정 35분 후 4분동안 7000psi 압력을 처리함. 그 결과 75%의 유도율을 보였음. 이러한 결과들은 본 과제에서의 압력을 이용한 3배체 유도 실험 결과와 비교하였을 때 유사한 수치이며 본 과제의 3배체 유도 기술력은 해외기술력과 유사하다고 볼 수 있음(DOĞANKAYA et al.,2014)

## 2. 경제적 성과

- 성장 돌삼다보어 품종은 일반 터벗과 비교하여 F1세대는 약 13% 이상의 빠른 성장속도 차이를 보였으며, F2세대는 180일 쯤 약 12% 빠른 성장을 보임. 안정적인 속성장 품종 개발을 통해 생산성 향상을 이루었음
- 돌삼다보어 마케팅을 통한 판로 확보를 위해서 국내·외 박람회와 수출상담회에 참가하여 돌삼다보어 종자 홍보 및 업무 협의를 가짐. 시장 확대를 위한 지속적 마케팅 및 판로 발굴을 통해서 334.6백만원의 국내 매출, 553.8달러의 종자 수출액을 달성함.
- 인위적 수온/광주기의 조절, 외인성 호르몬의 사용으로 수정란의 생산 및 성성숙 유도를 실시하였음. 지속적으로 수온/광주기의 파라미터를 변경하여 연구한 결과, 터벗의 생산에 적합한 최적 환경제어 조건을 확립하였으며 이를 활용하여 수정란 생산 매뉴얼을 개발 완료하여 터벗의 생산성 향상을 이루었음
- 돌삼다보어 건강종자 대량 생산 체계를 확립하기 위해 돌삼다보어 양식장 내의 사육 환경을 주기적으로 모니터링하였음. 사육 시스템 및 환경 변수 측정, 광주기 조건, 수질 환경 등을 모니터링 및 조절하여 건강종자 사육 관리 매뉴얼을 확립하였으며, 돌삼다보어 양식의 경제성을 확보하였음
- 또한, 돌삼다보어 양식장 내 양식수의 NGS 메타지놈 분석을 통해 양식수 내의 미생물 군집분석 및 감염성 미생물 모니터링 시스템을 개발하였음. 이를 통해 돌삼다보어의 미생물 유래 질병 감염을 예방할 수 있으며, 미생물 질병으로 발생하는 경제적 손실을 최소화할 수 있을것으로 기대함

- 사업화성과 및 매출실적
  - 사업화 성과

\*티봇의 국내 통계는 넓치류에 포함되어 점유율 계산 불가

항목	세부항목			성 과
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	67.5 억원
			향후 3년간 매출	40 억원
		관련제품	개발후 현재까지	억원
			향후 3년간 매출	억원
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : % 국외 : %
			향후 3년간 매출	국내 : % 국외 : %
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : % 국외 : %
			향후 3년간 매출	국내 : % 국외 : %
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위		위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위		위

- 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세부 항목	성 과			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	3년			
	소요예산(백만원)	1,500			
	예상 매출규모 (억원)	현재까지	3년후	5년후	
		67.5	100	150	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내			
		국외			
	향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획	유전체육종기술 및 건강종사 대량생산 기술을 타 품종에 적용할 예정			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)				
	수 출				

### 3장. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

#### 1절. 목표

- **터봇 건강종자 생산체계의 확립과 이의 생산 체계의 구축**
  - 터봇 육종기술을 통한 우수한 터봇 종자 생산을 통한 대량생산 시스템 확립
  - 터봇의 육종 기술을 통한 친어와 친어 후보군 관리 및 최적 사육시스템 구축
  - 고품질 수정란 생산 및 건강종자 대량생산
  - 터봇의 건강한 수정란 생산 및 종자의 상품성 검증을 통한 국내 판매 증진
  - 상업화된 규모의 품종보호 기술 탑재 수정란 공급 시스템 구축
  
- **터봇 우량종자의 해외시장 수요 창출과 공급으로 해외 및 국내 산업화**
  - 터봇 국내외 시장 개척과 우량종자 대량생산 및 판매
  - 국내외 시장 마케팅 및 해외 현지 기지 구축
  - 터봇 우량종자 대량생산을 통한 국내 양식어가 소득 증진

#### 2절. 목표 달성여부

구분	연도	세부 연구개발 목표, 평가의 착안점 및 기준	달성도 (%)	기술발전 기여도 (상, 중, 하)
1차년도	2017	0세대 터봇 친어 선발 및 사육 관리	100	상
		0세대 터봇 친어 교배지침 작성	100	상
		해외 생산 기반 조성	100	상
		국내 터봇 판매 전략 수립	100	상
		터봇 수정란 생산	100	상
		터봇 3배체 수정란 생산 방법 확인	100	상
		친어로부터 수정란 검사	100	상
		종자의 현장 적용 및 질병관리	100	상

구분	연도	세부 연구개발 목표, 평가의 착안점 및 기준	달성도 (%)	기술발전 기여도 (상, 중, 하)
2차년도	2018	1세대 육종핵집단 후보군 선발 및 관리	100	상
		1세대 육종핵집단 후보군 구성	100	상
		바이러스성 질병체 VHSV 방역을 위한 천연소독제 후보물질 죽줄 후보군 선정	100	상
		바이러스성 질병체 VHSV 방역을 위한 천연소독제 죽줄법 고안	100	상
		터봇 수정란 대량 공급 체계 구축	100	상
		터봇 3배체 수정란 생산 방법 확립	70	중
		현지 종자 생산 및 우량 자치어 양성	100	상
		국내외 터봇 시장 확보	100	상
3차년도	2019	국내외 육종핵집단(국내)과 친어후보군(중국) 구성 및 관리	100	상
		1세대 육종핵집단 후보군 선발 및 세대별 친어 관리	100	상
		터봇 수정란 대량 공급 체계 구축	100	상
		터봇 3배체 수정란 생산 방법 및 유도 확인	90	상
		국내외 건강종자 생산체계 확립	100	상
		국내외 터봇 시장 확대 및 마케팅	100	상
4차년도	2020	국내외 육종핵집단 구성 및 관리	100	상
		친어 세대, 1세대 육종 핵집단 관리 및 1세대 육종 핵집단 후보군 선발	100	상
		터봇 수정란 대량 공급 체계 구축	100	상
		터봇 3배체 수정란 생산방법 확립 및 종자 평가	80	상
		국내외 건강종자 대량 생산체계 확립	100	상
		국내외 터봇 시장 확대 및 마케팅	90	상

구분	연도	세부 연구개발 목표, 평가의 착안점 및 기준	달성도 (%)	기술발전 기여도 (상, 중, 하)
5차년도	2021	국내외 육종핵집단 구성 및 관리	100	상
		1세대 육종핵집단 후보군 선발 및 0, F1세대 육종핵집단 관리	100	상
		터봇 수정란 대량 공급 체계 구축	100	상
		터봇 3배체 수정란 생산방법 확립 및 종자 평가	80	상
		국내외 건강종자 대량 생산체계 확립	100	상
		국내외 터봇 시장 확대 및 마케팅	90	상

### 3절. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

- 본 과제에서는 터봇 3배체 수정란 생산 방법 확립 및 3배체 수정란 생산에 따른 정상개체와의 부화율, 기형률 등을 평가하고자 하였음. 수정란 난질 저하, 사육수 오염 등으로 높은 부상률과 수정률 및 부화율이 낮은 문제가 발생하였지만, 4차년도에 수정란 대량생산과 3배체 종자 생산에 성공하였음, 정확한 3배체 수정란 생산 및 부화율 증가를 위해서는 3배체 수정란 생산방법의 확립에 대한 후속연구가 필요할 것으로 판단됨
- COVID 19로 인한 국외 터봇 시장 확대 및 마케팅 등의 내용은 목표치에 미달하였으나 이는 국내외 현지 바이어 확보 및 유통체계 구축 등 지속적인 개선과 홍보 노력이 필요할 것으로 보임

### 4절. 연구결과의 활용 계획 등

- 국내 생산조건에 최적화된 터봇을 육종하고, 육종 및 육종핵집단 프로그램을 적용하여 외적 형질이 우수하고 경제적인 가계를 생산할 계획임
- 지속적인 육종을 통해 내병성 및 속성장 터봇을 생산하고, 동시에 어병연구를 병행하여 구체적인 어병 대책을 수립할 계획임
- 우수 가계 대량생산 라인의 최적 조건을 확립한 뒤 어업 종사자들과 관련 기관들에 기초적인 육종법 및 관련 기술에 관한 교육·지도를 통하여 국내 터봇 산업화를 추진할 계획임

## 붙임. 참고문헌

- Barrett, J. C., Fry, B., Maller, J. and Daly, M. J. (2005). Haploview: Analysis and visualization of LD and haplotype maps, *Bioinformatics*, 21, 263-265.
- Beck, M. L., Biggers, C. J., & Dupree, H. K. (1980). Karyological analysis of *Ctenopharyngodon idella*, *Aristichthys nobilis*, and their F1 hybrid. *Transactions of the American Fisheries Society*, 109(4), 433-438.
- Benfey, T. J., & Sutterlin, A. M. (1984). Triploidy induced by heat shock and hydrostatic pressure in landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 36(4), 359-367.
- Bernasconi, P., Cruz-Uribe, T., Rorrer, G., Bruce, N., & Cheney, D. (2004). Development of a TNT-detoxifying strain of the seaweed *Porphyra yezoensis* through genetic engineering. *J Phycol*, 40(suppl 1), 31.
- Bidwell, C. A., Chrisman, C. L., & Libey, G. S. (1985). Polyploidy induced by heat shock in channel catfish. *Aquaculture*, 51(1), 25-32.
- Brierley, A. S., Kingsford, M. J., 2009, Impacts of climate change on marine organisms and ecosystems, *Current biology*, 19, 602-614.
- Budiño, B., Cal, R. M., Piazzon, M. C., & Lamas, J. (2006). The activity of several components of the innate immune system in diploid and triploid turbot. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 145(1), 108-113.
- Cassani, J. R., & Caton, W. E. (1985). Induced triploidy in grass carp, *Ctenopharyngodon idella* Val. *Aquaculture*, 46(1), 37-44.
- Caporaso, J. G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F. D., Costello, E. K., ... & Knight, R. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature methods*, 7(5), 335-336.
- Chourrout, D. (1980). Thermal induction of diploid gynogenesis and triploidy in the eggs of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Reproduction Nutrition Développement*, 20(3A), 727-733.

- Chourrout, D. (1982). Tetraploidy induced by heat shocks in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Reproduction Nutrition Développement*, 22(3), 569-574.
- Chourrout, D. (1984). Pressure-induced retention of second polar body and suppression of first cleavage in rainbow trout: production of all-triploids, all-tetraploids, and heterozygous and homozygous diploid gynogenetics. *Aquaculture*, 36(1-2), 111-126.
- Davies, Y.M., de Oliveira, M.G.X., Cunha, M.P.V., Franco, L.S., Santos, S.L.P., Moreno, L.Z., Gomes, V.T. de Moura, Sato, M. I.Z., Nardi, M.S., Moreno, A.M., Saidenberg, A.B. and de Sá, L.R.M. and Knöbi, T.(2018) Edwardsiella tarda outbreak affecting fishes and aquatic birds in Brazil. *Vet. Quart.*, 38: 99-105.
- DOĞANKAYA, L., & BEKCAN, S. Döllenmeden Sonra Farklı Zamanlarda Uygulanan, Bas ınç ve S ıcaklık Şokları n ın Gökkuş ađ ı Alabal ı klar ında (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) Triploid Üretimine Etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 10(2), 35-43.2014
- Domeénech, A., Derenaáandez-Garayzábal, J. F., Pascual, C., Garcia, J. A., Cutuli, M. T., Moreno, M. A., ... & Dominguez, L. (1996). Streptococcosis in cultured turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), associated with *Streptococcus parauberis*. *Journal of fish diseases*, 19(1), 33-38.
- Doney, S. C., Ruckelshaus, M., Emmett, J., Barry, J. P., Chan, F., English, C. A., Galindo, H. M., Grebmeier, J. M., Hollowed, A. B., Knowlton, N., Polovina, J., Rabalais, N. N., Sydeman, W. J., Talley, L. D., (2012), Climate change impacts on marine ecosystems, *Annual Review of Marine Science*, 4, 11-37.
- Gervai, J., Páter, S., Nagy, A., Horvath, L., & Csényi, V. (1980). Induced triploidy in carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Biology*, 17(6), 667-671.
- Gjø en, H. M., and H. B. Bentsen. (1997) . Past, present, and future of genetic improvement in salmon aquaculture. *ICES Journal of Marine Science* 54.6: 1009-1014.
- Gonzalez, E. B., & de Boer, F. (2017). The development of the Norwegian wrasse fishery and the use of wrasses as cleaner fish in the salmon aquaculture industry. *Fisheries Science*, 83(5), 661-670.
- Hussain, M. G., Chatterji, A., McAndrew, B. J., & Johnstone, R. (1991). Triploidy induction in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. using pressure, heat and cold shocks. *Theoretical and Applied Genetics*, 81(1), 6-12.

- Houde, E.D. (1987). Fish early life dynamics and recruitment variability. *Am. Fish. Soc. Symp.*, 2: 17-29.
- Johnstone, R. (1985). Induction of triploidy in Atlantic salmon by heat shock. *Aquaculture*, 49(2), 133-139.
- Kim, D. S., Choi, G. C., & Park, I. S. (1990). Triploidy production of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of Aquaculture*, 3(2), 135-144.
- Kim, D. S., Jeong, C. H., Lee, Y. D., & Rho, S. (1994). Triploidy induction in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Aquaculture*, 7(1), 55-61.
- Kim, S.M., Jun, L.J., Park, M.A., Jung, S.H., Jeong, H.D. and Jeong, J.B. Monitoring of emaciation disease in cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus* in Jeju (2010-2013), Korea. *Korean J. Fish. Aquat. Sci.*, 48(5), 719-724, 2015.
- Kubota, S.S., Kaige, N., Miyazaki, T. and Miyashita, T.(1981) Histopathological studies on edwardsiellosis of tilapia-1. Natural infection. *Bulletin of the Faculty of Fisheries, Mie University* 9:155-165
- Lee, T. H., Guo, H., Wang, X., Kim, C., & Paterson, A. H. (2014). SNPhylo: a pipeline to construct a phylogenetic tree from huge SNP data. *BMC genomics*, 15(1), 1-6.
- Li, H., Handsaker, B., Wysoker, A., Fennell, T., Ruan, J., Homer, N., ... & Durbin, R. (2009). The sequence alignment/map format and SAMtools. *Bioinformatics*, 25(16), 2078-2079.
- Ma, A., Huang, Z., Wang, X., Guo, L., Lei, J., Yang, Z., & Qu, J. (2012). The selective breeding of thermal tolerance family and appraisal of performance in turbot *Scophthalmus maximus*. *Oceanologia et Limnologia Sinica/Hai Yang Yu Hu Chao*, 43(4), 797-804.
- Marshall, T. C., Slate, J., Kruuk, L. E. B. and Pemberton, J. M. (1998). Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology* 7: 639-655.
- Martínez, P., Robledo, D., Rodríguez-Ramilo, S. T., Hermida, M., Taboada, X., Pereiro, P., ... & Bouza, C. (2016). Turbot (*Scophthalmus maximus*) genomic resources: application for boosting aquaculture production. In *Genomics in aquaculture* (pp. 131-163). Academic Press.

- Ojima, Y., & Makino, S. (1978). Triploidy Induced by Cold Shock in Fertilized Eggs of the Carp A Preliminary Study. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, 54(7), 359-362.
- Ortigosa, M., Garay, E., & Pujalte, M. J. (1994). Numerical taxonomy of Vibrionaceae isolated from oysters and seawater along an annual cycle. *Systematic and Applied Microbiology*, 17(2), 216-225.
- Park, C. J., Nam, W. S., Lee, M. S., Kang, J. Y., & Kim, K. K. (2014). Microsatellite multiplex PCR method for selective breeding studies in Pacific abalone (*Haliotis discus hannai*). *The Korean Journal of Malacology*, 30(4), 383-390.
- Penman, D. J. (1987). Survival, growth rate and maturity in triploid tilapia. *Selection, hybridization, and genetic engineering in aquaculture*, 2.
- Perry, A. L., Low, P. J., Ellis, J. R., Reynolds, J. D., (2005). Climate change and distribution shifts in marine fishes, *Science*, 308, 1912-1915.
- Piferrer, F., Cal, R. M., Álvarez-Blázquez, B., Sánchez, L., & Martínez, P. (2000). Induction of triploidy in the turbot (*Scophthalmus maximus*): I. Ploidy determination and the effects of cold shocks. *Aquaculture*, 188(1-2), 79-90.
- Piferrer, F., Cal, R. M., Gómez, C., Bouza, C., & Martínez, P. (2003). Induction of triploidy in the turbot (*Scophthalmus maximus*): II. Effects of cold shock timing and induction of triploidy in a large volume of eggs. *Aquaculture*, 220(1-4), 821-831.
- Purdom, C. E. (1972). Induced polyploidy in plaice (*Pleuronectes platessa*) and its hybrid with the flounder (*Platichthys flesus*). *Heredity*, 29(1), 11-24.
- Sekiya, M., Setsuda, A., Sato, H., Song, K., Han, J. K., Kim, G. J., & Yeo, I. K. (2016). *Enteromyxum leei* (Myxosporea: Bivalvulida) as the cause of myxosporean emaciation disease of farmed olive flounders (*Paralichthys olivaceus*) and a turbot (*Scophthalmus maximus*) on Jeju Island, Korea. *Parasitology research*, 115(11), 4229-4237.
- Silva-Caballero, A., León-Ávila, G., Valenzuela-Galván, D., Maldonado, J. E., & Ortega, J. (2017). Patterns of genetic diversity of the white-nosed coati reveals phylogeographically structured subpopulations in Mexico. *Natural Resources*, 8(1), 31-53.
- Solar, I. I., Donaldson, E. M., & Hunter, G. A. (1984). Induction of triploidy in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) by heat shock, and investigation of early growth. *Aquaculture*, 42(1), 57-67.

- Svärdson, G. (1945). Chromosome studies on Salmonidae. Medd. Statens Undersökn. Sättvattensfiskat 23: 1-151.
- Swarup, H. (1959). Effect of triploidy on the body size, general organization and cellular structure in *Gasterosteus aculeatus* (L). Journal of Genetics, 56(2), 143-155.
- Thorgaard, G. H., Rabinovitch, P. S., Shen, M. W., Gall, G. A., Propp, J., & Utter, F. M. (1982). Triploid rainbow trout identified by flow cytometry. Aquaculture, 29(3-4), 305-309.
- Valenti, R. J. (1975). Induced polyploidy in *Tilapia aurea* (Steindachner) by means of temperature shock treatment. Journal of Fish Biology, 7(4), 519-528.
- Vasetzky, S. G. (1967). Change in the ploidy level of strugeon larvae under temperature treatment of the eggs at different developmental stages. Doklady Akademii Nauk SSSR 172 : 1234-1237
- Vasil'Ev, V. P., Makeeva, A. P., & Riabov, I. N. (1975). Triploidy in hybrids of carp with other representatives of the Cyprinidae family. Genetika, 11(8), 49-56.
- Wolters, W. R., Libey, G. S., & Chrisman, C. L. (1981). Induction of triploidy in channel catfish. Transactions of the American Fisheries Society, 110(2), 310-312.
- Won, K. M., Kim, S. M., & Park, S. I. (2006). Characterization of *Vibrio harveyi*, the causal agent of vibriosis in cultured marine fishes in Korea. Fisheries and aquatic sciences, 9(3), 123-128.
- Xu, T. J., & Chen, S. L. (2010). Induction of all-triploid Japanese Flounder (*Paralichthys olivaceus*) by cold shock.
- 김동수, 문영봉, 정창화, 김봉석, & 이영돈. (1994). 전 암컷 2 배체 및 3 배체 넙치 (*Paralichthys olivaceus*) 의 생산. 한국양식학회지, 7(3), 159-164.
- 김현정, 우승호, 김진우, & 박수일. (2005). *Streptococcus iniae* 의 형태학적 특성과 병원성. 한국어병학회지, 18(2), 167-178.
- 민병화, 김현철, 이정호, 노재구, 안혜숙, 박철지, ... & 명정인. (2010). 선발 육종넙치 *Paralichthys olivaceus* 및 일반넙치의 성장비교. 한국수산과학회지, 43(5), 457-461.
- 민병화, 이정호, 노재구, 김현철, 박철지, 최상준, & 명정인. (2009). 선발 육종된 넙치, *Paralichthys olivaceus* 의 부화율 및 자치어 성장. 발생과생식, 13(4), 239-247.

박철지, 남원식, 이명석, 강지윤, & 김경길. (2014). 근친교배에 의한 북방전복 (*Haliotis discus hannai*) 의근교약세 현상. *Korean J. Malacol*, 30(4), 415-419.

박철지, 이정호, 노재구, 김현철, 박종원, 황인준, & 김성연. (2012). 선발육종기술을 이용한 북방전복의 성장. *Korean J. Malacol*, 28(4), 343-347.

정용욱, 강철영, 김민주, 허문수, 오덕철, & 강봉조. (2006). 제주지역 양식넙치의 연쇄구균증 발생동향 및 원인균에 대한 분자적 동정. *미생물학회지*, 42(3), 199-204.

## 연구개발보고서 초록

프로젝트명	(국문) 수출용 터봇 종자 개발과 국내외 산업화				
	(영문) Development and commercialization of a superior turbot strain				
프로젝트 연구기관	어업회사법인(주)블루젠		프로젝트연구 책임자	(소속) 어업회사법인(주)블루젠	
참여기업	(영)해연, 남부수산, 신평해산양식			(성명) 이 우 재	
총연구개발비 (4,229,337 천원)	계	4,229,337 천원	총 연구 기간	2017. 01. ~ 2021. 12.(5년 0월)	
	정부출연 연구개발비	3,172,000 천원	총 참여 연구원 수	총 인원	105
	기업부담금	1,057,337 천원		내부인원	95
	연구기관부담금	-		외부인원	10

### ○ 연구개발 목표 및 성과

#### 1. 연구개발 목표

- 터봇 건강종자 생산체계의 확립과 이의 생산 체계의 구축
  - 터봇 육종기술을 통한 우수한 터봇 종자 생산을 통한 대량생산 시스템 확립
  - 터봇의 육종 기술을 통한 친어와 친어 후보군 관리 및 최적 사육시스템 구축
  - 고품질 수정란 생산 및 건강종자 대량생산
  - 터봇의 건강한 수정란 생산 및 종자의 상품성 검증을 통한 국내 판매 증진
  - 상업화된 규모의 품종보호 기술 탑재 수정란 공급 시스템 구축
- 터봇 우량종자의 해외시장 수요 창출과 공급으로 해외 및 국내 산업화
  - 터봇 국내외 시장 개척과 우량종자 대량생산 및 판매
  - 국내외 시장 마케팅 및 해외 현지 기지 구축
  - 터봇 우량종자 대량생산을 통한 국내 양식어가 소득 증진

#### 2. 연구개발 성과

- 유전체 육종기술을 통한 우수 친어 생산 및 최적 사육시스템 확립으로 건강종자 생산체계 확립과 대량생산 시스템을 구축하였으며, 새로운 고부가가치 양식 어종의 친어 및 종자 관리 시스템을 보급하여 어민소득 증대에 기여

- 성성숙 유도 시스템 연구를 통한 연중 수정란 생산 시스템 구축과 품종보호 기술개발(3배체)을 통해 건강한 수정란 생산 및 종자의 상품성 검증을 가능하게 하여 국내 판매 증진에 도움을 줌
- 터봇의 질병 발병률을 낮추고 건강종자를 생산하기 위해 바이러스 등과 같은 병원체에 대한 연구를 수행하여 질병 관리 시스템 체계를 구축하였고, 이를 매뉴얼로 작성하여 현장 적용방법을 구축함
- 국내 양식 환경에 적합한 터봇 품종개발을 위한 다양한 유전자원 수집 및 종자 생산 체계를 구축하고, 육종기술의 개발을 통하여 속성장 및 내병성 종자 개발 및 건강종자의 대량생산 체계를 확립함으로써 국제적 경쟁력을 갖춘 터봇 종자를 개발함. 개발된 터봇 종자의 상품성 검증을 통하여 터봇 우량종자의 국내외시장 수요 창출과 공급을 통하여 산업화에 기여
- 수출용 터봇의 육종기술 개발 및 고유의 친어 집단 및 터봇 품종 개발을 통하여 해외 현지 적응 우량 자치어 양성 및 생산 기반 구축으로 수출 경쟁력 강화 및 수출 거점 확보

### ○ 연구내용 및 결과

- 국내외로부터 기수집된 터봇 0세대 친어 후보군에 육종프로그램을 적용하여 돌삼다보어 F1, F2세대를 생산하였으며 PIT chip 삽입 등을 활용한 개체이력관리 시스템을 통해 유전적 다양성이 확보된 친어 후보군 선발 및 사육 관리를 진행하였음
- 돌삼다보어 F1 세대에서 교배지침을 작성하였으며, 지속적인 성장 모니터링을 통해 0세대 대비 약 10%, 중국 터봇 대비 약 10~15% 빠른 속성장을 확인하였음
- 터봇의 안정적인 종자 생산체계를 갖추고자 양식 어중에 가장 기본이 되는 사육수에 대한 기초적인 조사를 위해 정기적인 사육수 및 유입수의 NGS를 이용한 메타지놈 분석 진행하여 양식수 내의 미생물 분석을 진행하여 정기적인 모니터링을 진행하였음
- 돌삼다보어 대량 생산 체계를 확립하기 위해 사육 환경을 주기적으로 모니터링하였으며, 사육 시스템 및 환경 변수 측정, 광주기 조건 등을 조절하여 사육관리를 용이하게 하였음

- 돌삼다보어의 대량 생산을 위해 수온/광주기를 조절하여 성성숙을 유도하였음. 또한, 돌삼다보어의 품종보호를 위한 3배체 유도 종자 실험을 진행하였으며, 저온 및 압력 자극을 통한 3배체 유도 연구를 진행하였음. 저온보다 압력 자극에서 효율이 약 20% 높게 나타났으며, 압력 자극을 통한 3배체 유도 실험을 진행한 결과 약 79.3%의 3배체 유도율을 확인할 수 있었음. 또한, 본 연구를 통해 돌삼다보어 3배체 생산의 조건 및 신속한 유전자 검사법을 확립하여, 생산 초기에 3배체 여부를 신속하게 판단할 수 있음
- 제주지역 내 터봇 양식장을 대상으로 질병 모니터링을 실시하였음. 그 결과, 연쇄구균, 에드워드탈다균, 비브리오류, 활주세균, 스쿠티카충, 점액포자충 등이 발견되었음. 넙치와 유사하게 *Vibrio sp.*의 검출률이 가장 높게 나타났음
- *Vibrio sp.*를 터봇 인위적으로 감염시키고 소독 후 *Vibrio sp.* 기생 여부 확인한 결과 황산구리 소독제를 이용한 소독욕이 체외 기생성 *Vibrio sp.* 구제에 효과가 있음을 확인하였음. 황산구리 소독제를 천연 소독제로 활용할 수 있음을 확인함
- 터봇 건강종자생산을 위해 현장에 적용 가능한 질병관리 매뉴얼을 구축하였음. 주로 검출되는 병원체의 제어를 위해 소독 및 질병 초기대응 매뉴얼을 제시함
- 돌삼다보어의 체중, 전장, 체고 등 성장이 상대적으로 우수하고 질병(연쇄구균, 비브리오, VHSV)이 발생하지 않은 내병성 개체를 선발하여 유전형 분석 및 데이터베이스화를 진행하였음
- 돌삼다보어 F2세대 종자 및 수정란을 국내외 터봇 양식업체에 판매하여 돌삼다보어의 우수성을 홍보함
- 중국 현지 업체를 선정하여 돌삼다보어를 수출하여 현지에서 외형적으로 우수한 개체를 선발하여 친어 집단을 구성 및 관리하여 돌삼다보어 생산을 통한 돌삼다보어의 수정란 및 종자 판매를 진행하였음

#### ○ 연구성과 활용실적 및 계획

- 터봇 우량종자의 품질관리를 기반으로 수출시장의 현장적용을 통한 수출 증진과 국내외 양식에서 최적의 생산라인을 구축하여 터봇뿐만 아니라 넙치류의 국내외 양식 산업화를 통한 국내의 경제적 효과 및 국제경쟁력을 강화할 수 있음

- 유전자형 분석기법과 개발된 육종 프로그램을 이용하여 유전학적 분석, 우수 육종핵집단 선발 및 교배지침 작성 등을 수행하였으며, 이를 통해 돌삼다보어 품종의 생산성이 증가함
- 국내 고유의 터봇 종자 품종 보호를 위해 3배체 유도를 시도 및 검증하여 3배체 개체의 성장률 등의 기초 자료 확보하였음. 이를 토대로 상업화된 규모의 품종보호 기술 탑재 수정란 공급 시스템을 구축하여 안정적인 수정란 생산 시스템을 확립하였음
- 지속적인 육종을 통해 내병성 향상과 함께 터봇 어병에 대한 연구도 병행하여 구체적인 어병대책을 수립할 것이며, 그 결과로 특정 질병에 내성을 가지는 우수가계 확보 및 대량생산라인을 구축하여 국내 양식산업 활성화 및 수출증대는 물론 국민 먹거리의 다양성을 확보할 것임
- 어업 종사자들과 관련 기관들에 기초적인 육종법 및 관련 기술에 관하여 교육 및 지도를 할 예정이며, 또한 터봇에서 확립된 연구 및 기술은 나아가 타 어종에도 새로운 육종 기법 및 관련 기술들을 접목해 볼 수 있는 좋은 기회가 될 것임

<붙임 3> (프로젝트) 프로젝트별 현장실태조사보고서 및 자체평가보고서

프로젝트별 현장실태조사표

2021. 12. 16.

1. 과제개요

과제번호	213008-05-5-CG300	연구기간	2021년 1월 ~ 2021년 12월(총 1년)		
사업단명	GSP 수산종자 사업단				
프로젝트명	터봇 우량종자 개발과 국내외 산업화				
세부프로젝트 연구기관	세부프로젝트명	연구기관	세부프로젝트 책임자	해당 연구개발비(천원)	
	터봇 국내외 시장개척과 우량종자 대량생산 및 판매	어업회사법인 (주)블루젠	이우재	480,000	
	터봇 친어관리 및 수정란 생산 및 보급	(영)해연	서종표	173,334	
연구개발비총괄 (단위 : 백만원)	정부출연금	참여기업 부담금			합 계
		현금	현물	소계	
1차년도	740,000	24,667	222,000	246,667	986,667
2차년도	790,000	26,334	237,000	263,334	1,053,334
3차년도	672,000	22,401	201,600	224,001	896,001
4차년도	480,000	16,001	144,000	160,001	640,001
5차년도	490,000	16,334	147,000	163,334	653,334
합계	3,172,000	105,737	951,600	1,057,337	4,229,337

2. 연구추진실적(현재까지 추진실적)

가. 연구개발내용

연구기관	주요연구내용	연구개발 비 (천원)	가중치 (%)
어업회사법인 (주)블루젠	<ul style="list-style-type: none"> <li>국내외 육종핵집단 구성 및 관리</li> <li>- 1세대 육종핵집단 교배지침 작성 및 적용</li> <li>- 1세대 친어후보군 중 외적형질 우수개체 선발</li> <li>- 2세대 육종핵집단 후보군 구성</li> <li>- 조직 샘플링 및 유전자 분석을 통한 개체별 유전형 데이터 확보</li> <li>유전율 및 근친도 감시 시스템 구축</li> <li>- F1 및 F2 세대 친어의 유전형 데이터 분석</li> <li>- 유전적 다양성 지수 및 근교계수 관리</li> <li>중국 현지 친어 및 친어후보군 사육관리</li> </ul>	100,000	30

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 국내외 건강종자 대량 생산체계 확립</li> <li>- 참여기업별 상반기 종자 생산</li> <li>- 건강종자 생산관리 체계 구축</li> <li>- 제주지역 터벗 양식장 질병모니터링</li> <li>- 질병관리 매뉴얼 현장 적용방법 구축</li> <li>- 중국 현지 수정란 및 종자 생산 체계 구축</li> <li>- 현지 수정란 생산업체를 활용한 수정란 생산 및 입식</li> </ul>	266,667	40
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 국내외 터벗 시장 확대 및 마케팅</li> <li>- 참여기업 터벗 종자 국내판매</li> <li>- 중국 현지 생산한 종자 판매</li> <li>- 부산 국제수산EXPO 참가 및 홍보</li> </ul>	100,000	30
영어조합법인 해연	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 국내·외 사육중인 터벗에서 육종 핵집단 후보군 선발 및 관리</li> <li>- 0세대, 1세대 육종 핵집단 친어 관리 및 모니터링</li> <li>- 1세대, 2세대 육종 핵집단 후보군 추가 선발 및 사육 관리</li> </ul>	75,000	40
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 돌삼다보어 수정란 대량공급 체계 구축</li> <li>- 수온/광주기 조절을 통한 인공 성성숙 유도에 의한 돌삼다보어 수정란 생산 및 평가</li> <li>- 돌삼다보어 수정란 대량 연중 생산을 위한 체계 구축</li> <li>- 돌삼다보어 수정란 난질 개선을 위한 급이 및 성성숙 조건 평가</li> <li>- 2세대 돌삼다보어 수정란 생산 및 보급</li> <li>- 돌삼다보어 수정란 생산 체계 이원화 구축</li> </ul>	55,000	40
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 터벗 3배체 수정란 생산방법 확립 및 종자 평가</li> <li>- 인공수정 후 3배체 수정란 생산 예정</li> <li>- 터벗 3배체 종자의 분석 진행</li> <li>- 3배체 수정란 생산에 따른 정상개체와의 부화율, 기형률 등을 평가</li> </ul>	43,334	20

나. 연구계획대비 진도표

구분 개발내용	연구 개발 기간(월)												진도 (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
○국내외 육종핵집단 구성 및 관리	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	100
○국내외 건강종자 대량 생산체계 확립	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	100
○국내외 터봇 시장 확대 및 마케팅	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	100
○1세대 육종핵집단 후보군 선발 및 0, 1세대 육종핵집단 관리	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	100
○터봇 수정란 대량공급 체계 구축	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	100
○터봇 3배체 수정란 생산방법 확립 및 종자평가			→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	100
총 진도율	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	100

\* → 로 진도표기

### 3. 연구개발비 집행실적(연구개발비 기준)

(현재까지, 단위 : 천원)

<총괄>

비목	금액		계획금액	사용액	잔액	비고	
	세목						
직접비	내부인건비	미지급					
		지급	현금				
			현물				
	외부인건비	미지급	(6,000)				
		지급	현금	261,744	214,867.04	46,876.958	
			현물	66,732	62,121	4,611	
	연구 지원인력인건비						
	학생인건비						
	<b>인건비 소계</b>			328,476	206,019.042	46,606.534	
	연구시설장비비	현금	일반				
			통합관리				
		현물	80,268	80,268	0		
	연구활동비			29,552	26,595	2,956.972	
	연구재료비			141,918	141,918	0	
	연구수당			21,000	21,000	0	
위탁연구개발비			50,000	50,000	0		
<b>직접비 소계</b>			651,214	596,769.070	54,444.930		
간접비	간접비		2,120	1,400	720		
<b>연구개발비 총액</b>			653,334	598,169.070	55,164.930		

<1세부>

비목	금액		계획금액	사용액	잔액	비고
	세목					
직접비	내부인건비	미지급				
		지급	현금			
			현물			
	외부인건비	미지급	(6,000)			
		지급	현금	189,408	147,412.466	41,995.534
			현물	55,332	50,721	4,611
	연구 지원인력인건비					
	학생인건비					
	<b>인건비 소계</b>			244,740	198,133.466	46,606.534
	연구시설장비비	현금	일반			
			통합관리			
		현물	52,668	52,668	0	
	연구활동비			18,600	15,643.028	2,956.972
	연구재료비			100,872	100,872	0
	연구수당			12,000	12,000	0
위탁연구개발비			50,000	50,000	0	
<b>직접비 소계</b>			478,880	429,316.494	49,563.506	
간접비	간접비		1,120	400	720	
<b>연구개발비 총액</b>			480,000	429,716.494	50,283.506	

\* 세부프로젝트에 대해서도 『표』 추가하여 작성

<2세부>

비목	금액		계획금액	사용액	잔액	비고
	세목					
직접비	내부인건비	미지급				
		지급	현금			
			현물			
	외부인건비	미지급				
		지급	현금	72,336,000	67,454,576	4,881,424
			현물	11,400,000	11,400,000	0
	연구 지원인력인건비					
	학생인건비					
	인건비 소계			83,736,000	78,854,576	0
	연구시설장비비	현금	일반			
			통합관리			
		현물		27,600,000	27,600,000	0
	연구활동비			10,952,000	10,952,000	0
	연구재료비			41,046,000	41,046,000	0
	연구수당			9,000,000	9,000,000	0
	위탁연구개발비					
직접비 소계			172,334,000	167,452,576	4,881,424	
간접비	간접비		1,000,000	1,000,000	0	
연구개발비 총액			173,334,000	168,452,576	4,881,424	

#### 4. 참여기업 재무현황(현재기준)

##### ▶어업회사법인(주)블루젠

사업자등록번호	617-86-07386	대표자	이우재
설립년도	2013년	주요생산품	수산양식 연구개발
실무책임자	김민성	연락처	070-8771-9090
주소	부산광역시 해운대구 송정중앙로5번길 106-14, 2층		

자본금	224천만원		
연간 매출액	89.7천만원	수출액	천만원
연구개발투자비용	52.9천만원	매출액대비 비율	58.9%
총 종업원수	11명	연구가용인력	9명
재무상황	재무제표 참고		
프로젝트 책임자의 종합의견	* 연구과제 추진계획에 따라 정상적으로 연구개발 진행 완료 * 연구과제 수행에 있어 문제점 없음		

##### ▶(영)해연

사업자등록번호	616-61-62606	대표자	서종표
설립년도	2007년1월1일	주요생산품	넙치, 터봇
실무책임자	박찬훈	연락처	070-8827-0513
주소	제주특별자치도 제주시 구좌읍 해맞이해안로 866		

자본금	100 천만원		
연간 매출액	119천만원	수출액	90천만원
연구개발투자비용	48천만원	매출액대비 비율	41%
총 종업원수	11명	연구가용인력	8명
재무상황	재무제표 참고		
프로젝트 책임자의 종합의견	* 연구과제 추진계획에 따라 정상적으로 연구개발 진행 완료 * 연구과제 수행에 있어 문제점 없음		

##### ▶남부수산

사업자등록번호	416-91-04247	대표자	김종일
설립년도	2007년	주요생산품	어류 종자 생산
실무책임자	김주환	연락처	010-3629-3571
주소	전라남도 고흥군 도양읍 용정리 2090		

자 본 금	33.8천만원		
연간 매출액	36.9천만원	수출액	천만원
연구개발투자비용	천만원	매출액대비 비율	%
총 종업원수	2명	연구가용인력	2명
재무상황	재무제표 참고		
프로젝트 책임자의 종합의견	* 연구과제 추진계획에 따라 정상적으로 연구개발 진행 완료 * 연구과제 수행에 있어 문제점 없음		

▶신풍해산양식

사업자등록번호	316-90-16470	대 표 자	권형숙
설립년도	2003년	주요생산품	어류 종자 생산
실무책임자	권형숙	연 락 처	010-6586-7282
주 소	충청남도 태안군 원북면 구례포길 47-538		

자 본 금	1.9천만원		
연간 매출액	2.5천만원	수출액	천만원
연구개발투자비용	천만원	매출액대비 비율	%
총 종업원수	2명	연구가용인력	2명
재무상황	재무제표 참고		
프로젝트 책임자의 종합의견	* 연구과제 추진계획에 따라 정상적으로 연구개발 진행 완료 * 연구과제 수행에 있어 문제점 없음		

▶(주)피쉬케어

사업자등록번호	464-88-00333	대 표 자	김성현
설립년도	2016년	주요생산품	전문과학 및 기술서비스
실무책임자	김성현	연 락 처	010-3686-7604
주 소	제주도 서귀포시 표선면 세화로 162번길 21		

자 본 금	1백만원		
연간 매출액	773천만원	수출액	천만원
연구개발투자비용	84천만원	매출액대비 비율	10.8%
총 종업원수	7명	연구가용인력	7명
재무상황	재무제표 참고		
프로젝트 책임자의 종합의견	* 연구과제 추진계획에 따라 정상적으로 연구개발 진행 완료 * 연구과제 수행에 있어 문제점 없음		

## 5. 기타의견

### 가. 연구관리 규정 및 제도개선이 필요한 사항

GSP 수행 과정 중 특별히 제도개선이 필요한 부분이라고 느낀점은 없음

### 나. 연구수행 중 애로사항 및 건의사항

학술연구와 수출달성을 동시에 수행하는 것에 대한 부담이 많았음. 특히 현장 중심 수행기관의 학술연구 목적 (논문 등) 달성은 매우 쉽지 않은 부분이었음

### 다. 성과에 대한 홍보 요청사항

자체적으로 사업화와 언론 홍보를 하고 있으나 GSP 전체의 홍보가 필요한 부분이라 생각함

## 6. 프로젝트 책임자의 종합의견

9년간 과제 수행하면서 많은 어려움도 있었지만 보람된 일이었음. 타 기관과 협업을 통하여 문제 없이 과제를 수행하고 목적을 달성한 부분은 매우 긍정적이라 생각함. 다른 품종과의 협업이나 소통은 조금 아쉬운 부분이나 대체적으로 잘 진행된 것으로 판단됨

## 자체평가보고서

사업단명	GSP수산종자사업단	과제번호	213008-05-5-CG300		
프로젝트명	터봇 우량종자 개발과 국내외 산업화				
프로젝트연구기관	어업회사법인(주)블루젠				
연구담당자	프로젝트 연구책임자	이우재			
	세부프로젝트 연구책임자	기관(부서)	어업회사법인(주)블루젠	성 명	이우재
		기관(부서)	(영)해연	성 명	서종표
		기관(부서)		성 명	
		기관(부서)		성 명	
연구기간	총 기 간	2017.01.01.~2021.12.31. (5년)	당해 연도 기간	2021.01.01. ~2021.12.31	
연구비(천원)	총 규 모	4,229,337	당해 연도 규모	653,334	

1. 연구는 당초계획대로 진행되었는가?

당초계획 이상으로 진행       계획대로 진행       계획대로 진행되지 못함

○ 계획대로 수행되지 않은 원인은?

COVID 19로 인해 국외 터봇 시장 확대 및 마케팅 등의 내용은 목표치에 미달하였음.

국내외 현지 바이어 확보 및 유통체계 구축 등  
지속적인 개선과 홍보 노력이 필요할 것으로 보임

2. 당초 예상했던 성과는 얻었는가?

예상외 성과 얻음
  어느 정도 얻음
  얻지 못함

구분	품종개발		특허		논문		분자 마커	유전자 원		국내 매출액	종자 수출액	기술 이전	마케팅 전략수 립보고서	인력 양성
	출원	등록	출원	등록	SCI	비S CI		수 집	등 록					
최종목표	1	1	1	1	4	2			6	190 백만원	628 만달러	1		
연구기간 내 달성실적	1	5	1	1	-	2			30	334.6 백만원	533.8 만달러	3		
달성율(%)	100	500	100	100	0	100			500	176	85	300		

3. 연구개발 성과 세부 내용

3-1 기술적 성과

: 기술 실시 3건

기술실시					
번호	유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료
1	직접실시	개발 마커를 이용한 친자확인 및 선발육종으로 터벗 우량종자 생산	어업회사법인 (주)블루젠코리아	2018.09.21.	감면(0원)
2	직접실시	분자 마커를 활용한 유전적 다양성 유지 및 우수 친어관리 기술	어업회사법인 (주)블루젠코리아	2018.09.21.	감면(0원)
3	통상실시	돌삼다보어 친어관리 및 종자 생산 기술	마린씨드	2020.04.01	감면(0원)

3-2 과학적 성과

: 특허 출원 1건, 특허 등록 1건

지식재산권									
구분	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원			등록			기타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
발명특허	터벗 친자 식별용 유전자 마커 및 이를 이용한 친자 확인 방법	한국	(주)블루 젠코리 아	2018. 05.29	10-2018 -0061242	(주)블루젠 코리아	2019. 12.27.	10-2062452	

3-3 경제적 성과

: 국내 매출 19건, 해외 수출 70건

국내 종자 판매 실적			
번호	일자	건수	매출액(천원)
1차년도	17.08.10~17.09.09	3건	15,000
2차년도	18.06.22~18.09.20	4건	58,000
3차년도	19.08.27~19.09.03	3건	40,800
4차년도	20.05.11~20.08.06	8건	196,200
5차년도	21.01.29	1건	25,301.5

국외 종자 판매 실적			
번호	일자	건수	수출금액(\$)
1차년도	2017.12.03.~2017.12.09	12	437,310
2차년도	2018.08.14.~2018.12.10	15	773,609
3차년도	2019.07.15.~2019.09.29	16	1,278,922
4차년도	2020.09.03.~2020.09.14	10	1,147,530
5차년도	2021.02.26.~2021.09.28	17	1,713,313

3-4 사회적 성과

: 뉴스 및 관련 매체 6건

홍보 실적		
일자	활용명칭	활용내역
2017.11.09	유럽형 넙치 ‘터봇’ 한국형 종자 수출 임박(디지털타임즈)	한국 터봇 종자 수출 기사
2018.01.08	유럽형 넙치 ‘터봇’ 한국형 종자 수출 43만불 판매(미래한국)	한국 터봇 종자 중국 현지 판매 기사
2018.08.07	한국형 터봇 종자 국내 판매 활성화(헤럴드경제)	한국 터봇 종자 국내 보급 기사
2018.10.04	블루젠코리아. 한국형 터봇 ‘돌삼다보어’ 중국에 종자 수출(파이낸셜투데이)	돌삼다보어 종자 판매 기사
2019.09.18	한국형 터봇 ‘돌삼다보어’ 국내 보급 시작(디지털타임즈)	돌삼다보어 국내 보급 기사
2020.05.29	한국형 터봇 ‘돌삼다보어’ 보급 활발. 국내 자급률 향상 도모	돌삼다보어 국내 보급 기사

3-5 인프라 성과

: 해외기지 구축 1건, 양해각서 체결 6건

해외기지 구축				
번호	이름	계약일자	위치	활용년도
1	쑤양다오린창 양식장	2017.04.16.	중국 산둥성 위해시 장춘진 (山东省威海市 张村镇)	2017~

해외 종자 판매 양해각서 체결			
번호	일자	계약내용	계약자
1	2017.10.01	중국 현지 종자 사업 관련 협약	(주)블루젠코리아, 해광수산, 위해성산무역유한공사
2	2018.07.18	중국 현지 종자 사업 관련 협약	(주)블루젠코리아, 위해성산무역유한공사
3	2018.05.01	중국 현지 종자 위탁판매 관련 협약	(주)블루젠코리아, 위해성산무역유한공사
4	2019.05.01	중국 현지 종자 위탁판매 관련 협약	(주)블루젠코리아, 위해성산무역유한공사
5	2020.05.01	중국 현지 종자 위탁판매 관련 협약	(주)블루젠코리아, 위해성산무역유한공사
6	2021.05.01	중국 현지 종자 위탁판매 관련 협약	(주)블루젠코리아, 위해성산무역유한공사

4. 연구과정 및 성과가 농림어업기술의 발전·진보에 공헌했다고 보는가?

- 공헌했음                       현재로서 불투명함                       그렇지 않음

5. 경제적인 측면에서 종자산업의 수출증대와 수입대체에 공헌했다고 보는가?

- 공헌했음                       현재로서 불투명함                       그렇지 않음

6. 얻어진 성과와 발표상황

6-1 경제적 효과

기술료 등 수익                      수 익 :

기업 등예의                      기술이전 기업명 : 어업회사법인(주)블루젠코리아, 마린씨드

기술지도 등                      기업명 : 어업회사법인(주)블루젠코리아, 영어조합법인 해연



8. 관련된 기술의 발전속도나 추세를 감안할 때 연구계획을 조정할 필요가 있다고 생각하십니까?

- 없다                       약간 조정필요                       전반적인 조정필요

9. 연구과정에서의 애로 및 건의사항은?

GSP 수행 과정 중 특별히 애로 및 건의사항이라 생각되는 부분은 없음

**(※ 아래사항은 기업참여시 기업대표가 기록하십시오)**

1. 연구개발 목표의 달성도는?

- 만족                       보통                       미흡

(근거 : 주요 연구개발 핵심 기술인 터봇 유전체육종 기술개발을 완료 및 국내 터봇 시장 확대함)

2. 참여기업 입장에서 본 본과제의 기술성, 시장성, 경제성에 대한 의견

가. 연구 성과가 참여기업의 기술력 향상에 도움이 되었는가?

- 충분                       보통                       불충분

나. 연구 성과가 기업의 시장성 및 경제성에 도움이 되었는가?

- 충분                       보통                       불충분

3. 연구개발 계속참여여부 및 향후 추진계획은?

가. 연구수행과정은 기업의 요청을 충분히 반영하였는가?

- 충분                       보통                       불충분

4. 연구개발결과의 상품화(기업화) 여부는?

■ 즉시 기업화 가능   □ 수년 내 기업화 가능   □ 기업화 불가능

5. 기업화가 불가능한 경우 그 이유는?

구 분	소 속 기 관	직 위	성 명
프로젝트 책임자	어업회사법인 (주)블루젠	대표이사	이우재 

[별첨 2]

## 연구성과 활용계획서

### 1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input checked="" type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야		
프로젝트명	터봇 우량종자 개발과 국내외 산업화			
프로젝트 연구기관	어업회사법인 (주)블루젠	프로젝트연구책임자	이우재	
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	3,172,000 천원	1,057,337 천원		4,229,337 천원
연구개발기간	2017.01.01. ~ 2021.12.31			
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타(      ) <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:      )			

### 2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 국내외 육종핵집단 선발 및 관리	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 체중, 체장우수, 기형 유무, 질병내성 등을 고려한 우수 친어 집단 모집 및 선발 완료</li> <li>- 개체 이력관리 시스템을 통한 우수 개체 관리 완료</li> </ul>
① 수정란 대량 공급체계 구축 및 3배체 수정란 생산 방법 확립	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 호르몬/수온/광주기 조절을 통한 터봇의 성성숙 유도 및 수정란 대량 생산 체계 구축</li> <li>- 압력 자극과 저온자극을 이용한 3배체 수정란 연구 결과, 저온자극에 비해 압력자극이 약 20% 높은 효율로 확인되어 3배체 생산 시스템 확립 완료</li> </ul>
① 우량종자 대량생산 및 판매	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 속성장, 고수온 내성 및 내병성이 우수한 돌삼다보어 품종 개발 완료</li> <li>- 유전적 다양성이 확보된 돌삼다보어 F1, F2세대 종자 대량 생산 및 국내외 판매완료</li> <li>- 돌삼다보어 F3세대 생산 진행중이며 국내 터봇 시장 확대를 위해 지속적으로 우량종자를 판매할 계획</li> </ul>

①터봇 종자 국내외 시장 개척	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내 터봇시장 개척을 위해 매년 돌삼다보어 수정란 분양 및 종자 판매를 완료하였으며, 이를 통해 국내 터봇 시장을 개척함</li> <li>- 중국 해외기지 구축을 통해 돌삼다보어 친어 관리 및 수정란 생산을 성공적으로 완료하였으며, 해외 기지를 통해 돌삼다보어 종자 판매를 위한 국외 시장을 개척함</li> </ul>
------------------	--

### 3. 연구비 집행실적 (2017~2021)

#### [1세부]

구분	금액		사용액	잔액	비고
	세부프로젝트명	계획금액			
넙치	터봇 국내외 시장개척과 우량종자 대량생산 및 판매	626,667,000	619,894,136	6,772,864	2017
	터봇 국내외 시장개척과 우량종자 대량생산 및 판매	693,334,000	687,164,152	6,169,848	2018
	터봇 국내외 시장개척과 우량종자 대량생산 및 판매	641,334,000	634,172,092	7,161,908	2019
	터봇 국내외 시장개척과 우량종자 대량생산 및 판매	466,667,000	466,667,000	0	2020
	터봇 국내외 시장개척과 우량종자 대량생산 및 판매	480,000,000	451,849,764	28,150,236	2021
총계		2,908,002,000	2,859,747,144	48,254,856	

[2세부]

구분	금액	계 획금액	사 용액	잔액	비고
	세부프로젝트명				
넙치	터봇 친어관리 및 수정란 생산 및 보급	360,000,000	360,000,000	0	2017
	터봇 친어관리 및 수정란 생산 및 보급	360,000,000	358,088,651	2,093,074	2018
	터봇 친어관리 및 수정란 생산 및 보급	254,667,000	254,667,000	0	2019
	터봇 친어관리 및 수정란 생산 및 보급	173,334,000	173,334,000	0	2020
	터봇 친어관리 및 수정란 생산 및 보급	173,334,000	168,452,576	4,881,424	2021
총계		1,321,335,000	1,314,542,227	6,974,498	

#### 4. 연구목표 대비 성과

구분	품종개발		특허		논문		분자 마커	유전자원		국내매 출액 (백만원)	종자 수출액 (만달러)	기술이 전	마케팅 전략수립 보고서	인력 양성
	출원	등록	출원	등록	SCI	비SCI		수집	등록					
최종목표	1	1	1	1	4	2			8	190	628	1		-
최종실적	1	5	1	1	0	2			30	334.6	533.8	3		12
달성율(%)	100	500	100	100	0	100			375	176	85	300		-
1차 년 도	목표		-						2	30	40	1		
	실적		4						10	15	43.7	-		3
	달성률		-						500	50	109.25	-		-
2차 년 도	목표	1		1		1	1		4	30	70	-		
	실적	1		1		-	1		10	58	77.3	2		3
	달성률	100		100		0	100		250	193.3	110.4	-		-
3차 년 도	목표		1		1		1		2	40	110			
	실적		1		1		-		10	40.8	127.8			4
	달성률		100		100		-		500	102	116.2			-
4차 년 도	목표					1	-			40	150			
	실적					-	1			195.8	114.7			
	달성률					0	-			489.5	76.5			
5차 년 도	목표					1	1			50	258	-		
	실적					-	-			25	170.3	1		2
	달성률					0	0			50	66	-		-

#### 5. 핵심기술

구분	핵심기술 명
①	터벗 종자 유전체 육종 기술
②	수출용 터벗 친어 집단 모집 및 대량 생산 시스템
③	터벗 품종보호 기술(3배체)

6. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술개선·개량	특허출원	산업체이전(상품화)	현장애로 해결	정책자료	기타
①의 기술		v				v				
②의 기술		v								
③의 기술		v								

\* 각 해당란에 v 표시

7. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술 명	핵심기술별 연구결과 활용계획 및 기대효과
①의 기술	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 돌삼다보어 품종의 육종기술 개발을 통해 경제성을 가지는 형질에대한 지속적인 개선이 가능하며, 유전체육종기술은 현재 전 세계적으로 활용하는 가장</li> <li>- 고품질 터벗 종자 대량생산 시스템의 통합적 시스템을 구축하여 양식 산업화의 기초 확립</li> <li>- 국내 터벗 종자 생산 기반을 강화 및 국내 맞춤형 넙치 종자 생산 및 우수 상품의 산업화 추진을 통한 국내외 수익 창출</li> </ul>
②의 기술	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 고품질 터벗 종자 대량 생산 시스템의 통합적 시스템을 구축함으로써 터벗 종자 생산 기반을 강화 및 국내외 양식 산업화의 기대</li> <li>- 수출형 터벗 종자 개발로 국내뿐만 아니라 글로벌 시장을 목표로 한 고부가가치 양식산업이 활성화되고 국내외 경제적 가치 및 국제경쟁력 증대</li> </ul>
③의 기술	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 압력자극 기반의 3배체 생산 시스템 확립을 통해 3배체 터벗의 대량 생산 및 국내외 양식 산업화 실시</li> <li>- 3배체 터벗의 개발로 우량 돌삼다보어의 품종 보호 수단 확보</li> </ul>

8. 연구종료 후 성과창출 계획

구분	품종 개발		특허		논문		분자 마커	유전자원		국내매출액	종자 수출액	기술이전	마케팅 전략 수립 보고서	인력 양성
	출원	등록	출원	등록	SCI	비SCI		수집	등록					
최종목표	1	1	1	1	4	2			8	190	628	1		-
연구기간 내 달성실적	1	5	1	1	0	2			30	334.6	533.8	3		12
연구종료 후 성과창출 계획	수행한 연구를 활용하여 향후 부족한 SCI 실적을 달성하도록 노력할 예정임 지속적인 종자 수출을 통해 목표 수출액을 달성하도록 노력할 예정임													

9. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술 명	터벗 종자 유전체 육종 기술		
이전형태	<input checked="" type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	- 천원
이전방식	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input checked="" type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타( )		
이전소요기간	2년	실용화예상시기	2025년 이후
기술이전 시 선행조건	터벗 참조집단 확립 유전체 육종 시스템 활용을 위한 경제형질 측정 기술 확보		

\* 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성

\*\* 기술이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)

\*\*\* 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등

### 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부·해양수산부에서 시행한 Golden Seed프로젝트사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부·해양수산부(농림식품기술기획평가원)에서 시행한 Golden Seed프로젝트사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.